

**COMITÉ DE LA PRÉVENTION  
ET DE LA PRÉCAUTION**

# **NANOTECHNOLOGIES NANOPARTICULES**

**QUELS DANGERS, QUELS RISQUES ?**

**Paris, mai 2006**

**MINISTÈRE DE L'ÉCOLOGIE ET DU DÉVELOPPEMENT DURABLE**

**Edition juin 2006**

# SOMMAIRE

---

|                                                                                      |           |
|--------------------------------------------------------------------------------------|-----------|
| INTRODUCTION .....                                                                   | 4         |
| RECOMMANDATIONS DU CPP .....                                                         | 6         |
| CHAPITRE 1. LES NANOTECHNOLOGIES ET NANOPARTICULES : DE QUOI PARLE-T-ON ?            |           |
| 1. Propriétés physiques et physico-chimiques des nanoparticules .....                | 12        |
| 2. Production et utilisation .....                                                   | 20        |
| CHAPITRE 2. QUELS DANGERS, QUELS RISQUES ?                                           |           |
| 1. Aspects toxicologiques et sanitaires .....                                        | 24        |
| 2. Approches écotoxicologiques .....                                                 | 31        |
| CHAPITRE 3. QUE FAIRE ?                                                              |           |
| 1. Aspects réglementaires et institutionnels .....                                   | 34        |
| 2. La gestion des risques .....                                                      | 38        |
| 3. Apects sociétaux .....                                                            | 42        |
|                                                                                      |           |
| <i>Annexes 1. Propriétés physiques et physico-chimiques des nanoparticules .....</i> | <i>46</i> |
| <i>Annexe 2. Quelques applications des nanotechnologies .....</i>                    | <i>54</i> |
| <i>Annexes 3. Aspects toxicologiques, sanitaires et écotoxicologiques .....</i>      | <i>55</i> |
| <i>Annexe 4. Gestion des risques professionnels .....</i>                            | <i>63</i> |
| <i>Annexe 5. Pour en savoir plus... sur internet .....</i>                           | <i>64</i> |

# INTRODUCTION

Monsieur Serge Lepeltier, Ministre de l'écologie et du développement durable, a demandé le 17 décembre 2004 au Comité de la Prévention et de la Précaution d'examiner les conséquences sanitaires possibles de la production et mise en œuvre de particules d'échelle de taille nanométrique et les moyens actuellement existants pour organiser la vigilance collective et disposer d'une capacité à appréhender les risques.

Il est demandé au CPP de proposer «des moyens d'accompagner correctement la croissance des usagers et des disséminations des nanoparticules et d'émettre des recommandations sur la conduite à tenir pour le suivi, l'identification de risques et l'élaboration des précautions adaptées à ces nouvelles échelles».

Parallèlement à cette saisine, le Ministère de la santé et des solidarités, le Ministère de l'écologie et du développement durable et le Ministère de l'emploi, de la cohésion sociale et du logement ont saisi l'Agence Française de Sécurité Sanitaire de l'Environnement et du Travail (AFSSET) pour que soit réalisée une synthèse des connaissances scientifiques et techniques disponibles sur :

- la typologie, les propriétés physico-chimiques, les caractéristiques toxicologiques et les effets biologiques et sanitaires des nanomatériaux ;
- les domaines d'utilisation actuels et futurs de ces nanomatériaux ;
- les outils métrologiques disponibles ou en cours de développement ;
- les données d'exposition (actuelle et potentielle) de la population générale et des travailleurs notamment les paramètres pertinents permettant de la caractériser ;
- les impacts sanitaires.

Cette synthèse doit être complétée par des propositions de pistes prioritaires pour la réalisation d'études et de recherches (métrologie, toxicologie, épidémiologie, etc...) permettant d'améliorer l'évaluation des risques sanitaires, notamment en milieu professionnel. Outre le CPP et l'AFSSET, l'Agence Française de Sécurité Sanitaire des Produits de Santé (AFSSAPS) a également été saisie sur les risques des différents produits relevant de sa compétence susceptibles de contenir des nanoparticules dans les médicaments et produits cosmétiques. Le Comité d'Éthique pour les Sciences du CNRS (COMETS) prépare également, en collaboration le Comité Consultatif National d'Éthique pour la santé et les sciences de la vie (CCNE), un avis sur les aspects éthiques associés au développement de ces nanotechnologies.

La base commune de ces technologies est de produire des objets ou matériaux dont au moins une dimension est inférieure à 100 nanomètres. En référence à la saisine ministérielle, le présent avis porte plus spécialement **sur les nanoparticules, objets dont au moins 2 des 3 dimensions dans l'espace sont inférieures à 100 nm.**

L'acquisition de nouvelles propriétés physico-chimiques lorsque la matière est très finement divisée ouvre un immense champ de recherches fondamentales et appliquées regroupées sous l'appellation de «nanosciences». Les applications et usages potentiels des matériaux et procédés qui devraient en découler conduisent l'industrie à investir massivement dans le développement des «nanotechnologies» dans des domaines très diversifiés (médecine, communications, électronique, transports...). Les prévisions économiques et sociales paraissent extraordinaires : les projections de l'US National Science Foundation estime que l'impact économique des nanotechnologies à travers le monde se chiffrera à plus de mille milliards de dollars d'ici 2015, et générera plus de 2 millions d'emplois.

Les perspectives économiques justifient les considérables efforts de recherche et développement sur les nanotechnologies. Le contraste n'en est que plus frappant avec le caractère encore très limité des études d'impact sanitaire des nanotechnologies de leur production à leur destin final (déchets) et la proposition très insuffisante des enveloppes budgétaires destinées à ce type d'investigation. Cet impact peut être de nature strictement sanitaire, mais aussi social et éthique. Sur le plan sanitaire, ce sont justement les propriétés technologiquement intéressantes des nanoparticules qui peuvent poser problème.

Le présent avis porte sur les questions de santé environnementale et au travail. En revanche, la saisine ne prendra pas en compte les informations relatives aux applications bio-médicales, puisque cette approche particulière a été demandée à l'AFSSAPS et nécessite l'accès aux dossiers réglementaires prévus dans le cadre des autorisations de mise sur le marché de ce type de produits.

Par ailleurs, l'une des craintes suscitées par le développement des nanotechnologies est la perte de contrôle de processus de fabrication de nanomachines chargées de s'auto-réplicuer, menant à une multiplication exponentielle et aboutissant pour finir à une consommation de l'ensemble des molécules utilisables sur la planète pour cette fabrication, espèce humaine comprise. Cette hypothèse avancée par Drexler [1] (la «gelée grise», en anglais Gray Goo) a donné lieu à un ouvrage de science fiction à succès (Crichton, [2]) et d'ores et déjà à des idées de parades techniques. Ce scénario suppose que les nanomachines soient capables d'auto-réplication, ce qui suppose une maîtrise de la complexité que nous sommes très loin de posséder. L'hypothèse ne sera donc pas discutée plus avant dans cet avis.

Les conséquences possibles de la mise en œuvre des nanotechnologies sont pour l'essentiel aussi imprévisibles que celles du développement de l'informatique individuelle ou d'Internet à leurs débuts. Néanmoins, certaines applications ou usages devraient susciter une particulière vigilance : ainsi les processus de séparation isotopique de radio-éléments pourraient être grandement facilités par les nanotechnologies. Une interprétation possible est que la fabrication d'armes nucléaires va s'en trouver simplifiée.

De nombreux rapports ou publications internationales (par exemple [3] à [8]) se sont penchés sur le développement des nanotechnologies et dans une moindre mesure sur leurs risques. La présente saisine s'applique à distinguer aussi finement que possible les éléments de connaissances des dangers et l'évaluation des risques.

## RÉFÉRENCES :

- [1] Drexler E, Engines of creation. The Coming Era of Nanotechnology. Anchor Books 1986, <http://www.foresight.org/EOC/>
- [2] Crichton M, 2003. La Proie. Robert Laffont, 2003.
- [3] Rapport de la Royal Society et Royal Academy of Engineering : Nanoscience and Nanotechnologies: Opportunities and Uncertainties, 29 July 2004, <http://www.nanotec.org.uk/finalReport.htm>
- [4] Rapport HSE – Nanoparticles: An Occupational Hygiene Review, prepared by the Institute of Occupational Medicine for Health and Safety Executive, 2004.
- [5] European Commission – Health and Consumer Protection Directorate General, Scientific Committee on Emerging and Newly Identified Risks (SCENIHR), Opinion on the appropriateness of existing methodologies to assess the potential risks associated with engineered and adventitious products of nanotechnologies, SCENIHR/002/05, 28-29 September 2005. [http://europa.eu.int/comm/health/ph\\_risk/committees/04\\_scenihr/docs/scenihr\\_o\\_003.pdf](http://europa.eu.int/comm/health/ph_risk/committees/04_scenihr/docs/scenihr_o_003.pdf)
- [6] European Commission, Rapport on Nanotechnologies: A Preliminary Risk Analysis On The Basis of a Workshop Organised in Brussels on 1–2 March 2004 by the Health and Consumer Protection Directorate General of the European Commission, [http://europa.eu.int/comm/health/ph\\_risk/events\\_risk\\_en.htm](http://europa.eu.int/comm/health/ph_risk/events_risk_en.htm).
- [7] Oberdörster, G. et al. Nanotoxicology: an emerging discipline evolving from studies of ultrafine particles. Environmental Health Perspectives 113: 823-839, 2005.
- [8] Nel, A., Xia, T., Mädler, L. Li, N., Toxic Potential of Materials at the Nanolevel, Science 311(5761):622 – 627, 2006.

# Recommandations du CPP

Le présent avis concerne les nanoparticules manufacturées à l'exception des nanoparticules utilisées à des fins médicales. Il dresse l'état des connaissances concernant les sources, les utilisations et le devenir des nanoparticules, leurs caractéristiques physico-chimiques, les données toxicologiques et écotoxicologiques. Par ailleurs, il présente les réglementations susceptibles de s'appliquer aux nanoparticules. Il s'interroge enfin sur la place à donner aux citoyens dans les choix sociétaux que les nanotechnologies impliquent.

De l'analyse ainsi menée, il ressort au premier chef que les nanoparticules, du fait de leur très petite taille, peuvent susciter une réaction biologique et présenter un danger. Certes, il n'existe pas actuellement suffisamment de données pour évaluer le risque réel pour la santé de l'homme ou plus généralement l'impact sur le vivant. Mais de multiples arguments indiquent l'existence d'une réactivité biologique particulière des nanoparticules en rapport avec leur très petite taille, comparée à celle qui est observée avec des particules de même composition mais de plus grande taille (de l'ordre du micromètre ou plus). Cette réactivité cellulaire et tissulaire peut constituer un danger chez l'homme si celui-ci est exposé par inhalation, ingestion ou passage transcutané, à ces particules.

Compte tenu de ce constat, le CPP émet les quatre séries de recommandations suivantes :

## **1 RECENSER LES NANOPARTICULES ISSUES DES NANOTECHNOLOGIES ET LES FILIERES DE PRODUCTION**

Alors qu'elles sont en pleine expansion, il reste aujourd'hui difficile d'identifier les nanoparticules manufacturées ainsi que leurs filières de production. Deux exigences s'imposent donc dès maintenant et seront à confirmer en fonction de l'évolution des nanotechnologies :

### **➤ Normaliser la nomenclature des nanoparticules pour les identifier formellement sans ambiguïté**

Afin de distinguer les différentes variétés de nanoparticules produites à des fins de recherche ou dans un but commercial, une normalisation est un préalable indispensable. Dans cette perspective, les travaux de la commission ISO/TC 229 qui visent entre autres à classer et à caractériser les nanoparticules, doivent être soutenus au plan institutionnel.

### **➤ Assurer la transparence de la production et des usages**

Il convient de procéder au plus vite à un recensement et à une description précis des filières de production, d'utilisation, et d'élimination des nanoparticules, de leur potentiel de développement, enfin du nombre actuel de travailleurs exposés et de celui à prévoir dans le futur. Il faut également identifier de façon précise les flux de nanoparticules manufacturées, et les formes sous lesquelles elles sont conditionnées, transportées, et mises en œuvre. Les filières de recyclage et d'élimination devraient également être recensées. Enfin et plus généralement, le devenir des nanoparticules doit être pris en compte depuis leur production, jusqu'à leur élimination, par exemple par intégration dans des particules de plus grande dimension.

## 2 PRODUIRE DE NOUVELLES CONNAISSANCES

Alors que la production et l'exploitation des nanoparticules se développent rapidement, la connaissance des risques qui leur sont liés reste extrêmement embryonnaire. Dans une démarche de développement durable, le CPP formule trois recommandations :

### ➤ Identifier les populations concernées et développer la métrologie pour en mesurer les expositions

Il est nécessaire d'identifier les populations susceptibles d'être exposées aux nanoparticules (travailleurs, consommateurs, population générale).

Il est impératif de développer les outils métrologiques adaptés aux caractéristiques des nanoparticules et les appliquer en priorité aux divers environnements professionnels (production, utilisation, maintenance, élimination) où les niveaux d'exposition sont potentiellement les plus élevés.

### ➤ Mieux connaître les dangers et les risques

#### *\* Evaluer les dangers et les risques chez l'homme*

Il est nécessaire de mettre au point des tests de toxicité applicables à la détermination rapide des effets toxiques des nanoparticules (criblage).

Les laboratoires de recherche doivent parallèlement développer des études plus fines sur les mécanismes d'action de nanoparticules parfaitement bien caractérisées. Les relations doses-réponses doivent intégrer les divers paramètres rendant mieux compte de ces mécanismes (concentrations numériques et surfaciques notamment). Ces études doivent également prendre en considération les transformations des particules au contact des composants de l'atmosphère et doivent inclure des études chez l'animal pour analyser les effets tissulaires et systémiques.

Des études épidémiologiques sur des populations exposées, notamment en milieu professionnel, doivent être entreprises.

Des travaux complémentaires sont nécessaires pour savoir s'il est possible d'extrapoler aux nanoparticules certaines des valeurs limites d'exposition existant pour des particules de même composition mais de taille micrométrique.

#### *\* Evaluer les dangers pour les espèces et les risques pour les écosystèmes*

En prévision des risques environnementaux liés à l'utilisation et à la dissémination des nanoparticules, des recherches doivent être conduites de manière à :

- inventorier les sources existantes et potentielles et quantifier les apports vers les écosystèmes,
- déterminer les niveaux de présence et les formes physico-chimiques des nanoparticules dans les compartiments de l'environnement,
- identifier les espèces cibles pour lesquelles des bioessais spécifiques sont à définir : une attention toute particulière doit être portée vers les effets sur les organismes filtreurs, susceptibles de retenir et assimiler les agglomérats et agrégats, en raison des risques d'accumulations intracellulaires et de transmission à l'homme par la voie alimentaire ; il en est de même pour les organismes des sols ou benthiques, qui peuvent ingérer des matériaux solides contaminés par des nanoparticules,
- évaluer enfin, à partir d'études menées sur les effluents liquides, le devenir des nanoparticules dans les boues des stations d'épuration et les matières en suspension rejetées dans les rivières.

## ➤ Stimuler et coordonner les recherches sur les dangers et les risques

Il importe de rééquilibrer les financements de la recherche publique sur les nanotechnologies, dédiés pour une part à l'évaluation du risque et pour une autre part au développement de ces nanotechnologies. Les incitations publiques à la recherche ou à l'investissement dans ce domaine doivent systématiquement comporter un volet «sécurité» et un volet «traçabilité des produits»

Les programmes de recherche réalisés sur les évaluations de risque des nanoparticules, en particulier à partir de programmes gouvernementaux des pays de l'OCDE, devraient être coordonnés. Il est souhaitable notamment d'encourager la création auprès de la Commission européenne d'une unité spécialisée pour coordonner/superviser les recherches sur les nanoparticules dans les pays membres.

## 3 ADOPTER DES MESURES DE PRECAUTION

Les connaissances déjà acquises permettent de recommander dès maintenant la mise en place de mesures d'évaluation et de gestion :

### ➤ Protéger les travailleurs, la population générale et les écosystèmes

*\* Le CPP recommande d'introduire aux postes de travail* où sont manipulées les nanoparticules un ensemble de dispositions protégeant les travailleurs, sans attendre la mise en évidence de la toxicité ou de l'innocuité des différentes nanoparticules. Pourraient être exemptées de ces mesures, sous réserve d'un système de vigilance adapté, les seules nanoparticules pour lesquelles des tests toxicologiques n'auraient pas montré de toxicité par les méthodes actuellement utilisées.

Les dispositions recommandées portent sur :

- l'obligation de confinement dans des systèmes clos chaque fois que cela est possible ;
- la limitation et l'évaluation des expositions ;
- l'exclusion, des postes de travail concernés, des femmes enceintes ou allaitant ;
- la mise à disposition de moyens collectifs et individuels de protection ;
- la collecte, l'évacuation et le traitement fiables des déchets ;
- l'information des travailleurs, de leurs représentants, et des organismes de contrôle ;
- une surveillance médicale renforcée.

Ces dispositions générales devraient être complétées par les mesures spécifiques suivantes :

- L'air des ateliers utilisant des nanoparticules devrait être filtré avant rejet dans l'atmosphère.
- En l'absence de valeur limite d'exposition issue de la recherche toxicologique, le principe ALARA (as low as reasonably achievable - aussi bas qu'il est raisonnablement réalisable) doit être appliqué.
- Une information spécifique, à destination des Comités d'Hygiène Sécurité Conditions de Travail des établissements concernés, doit être élaborée.
- De plus il est nécessaire d'organiser une surveillance sanitaire des populations de travailleurs concernés.

**\* *Pour éviter la dispersion incontrôlée de ces nanoparticules***, le CPP recommande les dispositions suivantes :

- Les déchets solides (filtres, conditionnements,...) doivent être conditionnés dans des emballages fermés pour leur manipulation jusqu'à l'incinération ou le retraitement.
- L'air et les rejets liquides des industries de nanoparticules doivent être traités et les rejets faire l'objet d'une surveillance appropriée.
- Les missions des administrations déconcentrées de l'Etat (DRIRE, DRASS, DIREN,...) devraient s'élargir à la surveillance territoriale des installations de toute nature traitant de nanoparticules et veiller à une interaction avec les autorités réglementaires nationales et européennes.
- Ces préoccupations ne doivent pas être découplées de celles concernant les particules ultrafines produites non intentionnellement. Dans cet esprit, il est souhaitable de développer des campagnes de mesure de nanoparticules, en priorité dans l'air ambiant ou dans l'air intérieur, de façon représentative.

### ➤ **Elaborer un dispositif national réglementaire en cohérence avec les recommandations de la Commission européenne**

En l'état actuel du droit, toute une série de réglementations existantes paraît potentiellement applicable aux nanoparticules, mais aucune ne les vise spécifiquement, ce qui en rend la mise en œuvre très aléatoire et exige l'adoption rapide de mesures assurant un développement responsable des nanoparticules.

Quelle que soit la forme de ces mesures, elles devront s'inspirer de quatre principes :

- En raison de leur taille et de leur surface, les nanoparticules doivent être appréhendées comme des substances en tant que telles ou comme des nouveaux produits, et non comme la simple miniaturisation de substances ou de produits dont les risques et nuisances sont déjà connus.
- Un principe d'évaluation systématique des nanoparticules doit être établi. Des tests toxicologiques standardisés doivent être réalisés systématiquement lors de la mise en œuvre de toutes les nouvelles variétés de nanoparticules manufacturées en s'appuyant sur les tests prévus dans la réglementation européenne.
- Tout programme de développement de nanoparticules devrait être associé à des recherches destinées à évaluer la sécurité sanitaire et environnementale de ces substances et produits.
- Les consommateurs doivent être informés de la présence, dans les produits qu'ils achètent, de nanoparticules susceptibles d'être remises en circulation. Afin de permettre une traçabilité des produits susceptibles de disperser des nanoparticules (à toutes les étapes de la fabrication, de la mise en œuvre industrielle, de l'usage ou de la consommation, et du recyclage) un étiquetage spécifique doit être mis en place (principe de transparence).

## 4 PRENDRE EN COMPTE LES ASPECTS SOCIÉTAUX

Au-delà de la présentation technique et de la connaissance sur les risques sanitaires et environnementaux potentiels, le CPP a souhaité également donner dans son avis une place à une réflexion sociétale plus large introduite par le développement de ces nanotechnologies. A ce sujet, il émet les recommandations suivantes :

- Mettre en place un système d'observation («observatoire sociétal») du développement, de la production et de l'usage des nanotechnologies afin d'interroger l'utilité sociale des nanotechnologies et la nécessité de leur production pour la société dans différents domaines d'application connus et envisagés.
- Organiser l'implication des populations concernées (travailleurs, usagers, riverains, consommateurs) dans cette observation et ce suivi des nanotechnologies : développer des démarches participatives (débat public, conférences de citoyens...).
- Prendre toutes les initiatives permettant d'organiser des débats locaux en les intégrant aux initiatives nationales et internationales.

Compte tenu des enjeux sociétaux et plus généralement des questions éthiques posées par le développement des nanotechnologies, il est nécessaire de s'assurer que les comités d'éthique, et notamment le Comité Consultatif National d'Éthique pour la santé et les sciences de la vie (CCNE), disposent des moyens nécessaires pour remplir leur mission.

- Il faut inciter les organismes de recherche à développer des programmes sur les implications sociales et éthiques des nanotechnologies.
- Il est par ailleurs nécessaire de sensibiliser les chercheurs et personnels de laboratoire aux enjeux sociétaux et éthiques. Dans ce sens, il importe de soutenir les «partenariats» (ou de créer un espace de dialogue) entre chercheurs et acteurs de la société civile (directement et via les organisations syndicales, les associations...).

Enfin, le CPP rappelle que les bénéfices directs et indirects du développement des nanotechnologies pour la société et l'individu sont actuellement imprévisibles. Dès qu'ils deviendront appréhendables, ces bénéfices devront être systématiquement mis en rapport avec les risques qu'ils peuvent engendrer.

# **CHAPITRE 1**

---

## **LES NANOTECHNOLOGIES ET NANOPARTICULES:**

## **DE QUOI PARLE-T-ON ?**

# SECTION 1 : PROPRIÉTÉS PHYSIQUES ET PHYSICO-CHIMIQUES DES NANOPARTICULES

Bien que le présent avis porte sur les nanoparticules intentionnellement produites (nanoparticules manufacturées), il existe d'autres nanoparticules produites soit par des processus naturels soit à l'occasion d'activités d'origine humaine.

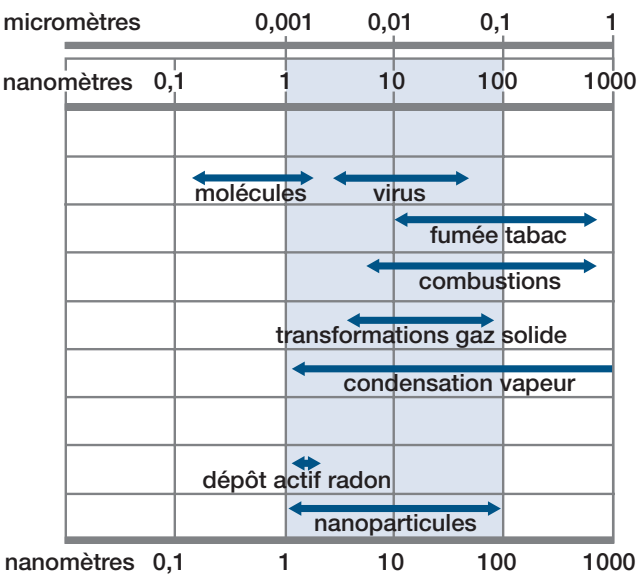
L'ensemble des nanoparticules peut se décrire en fonction de différents paramètres :

- leurs sources (naturelles et/ou anthropiques) ;
- leurs dimensions et leurs formes (objets à 1, 2 ou 3 dimensions nanométriques, cf. Annexe I-5) ;
- leur composition chimique (particules carbonées, particules organiques, sulfates, nitrates, particules métalliques ou céramiques, polymères et autres).

**Les nanoparticules d'origine naturelle et/ou anthropique** se retrouvent mélangées dans l'atmosphère. Celles-ci, appelées en général particules ultrafines, proviennent de combustions diverses, la plupart d'origine anthropique ou de réactions entre composés gazeux (réactions gaz-solide) avec par exemple formation de chlorure d'ammonium (suite à la réaction entre l'acide chlorhydrique et l'ammoniac), de sulfates, de nitrates, de constituants organiques, etc.

Les nanoparticules atmosphériques correspondent en général à un aérosol avec un spectre granulométrique étendu, qui déborde celui des nanoparticules, qui constituent la partie inférieure du spectre. Les virus qui se trouvent à l'origine dans le domaine des nanoparticules, sont fixés sur d'autres particules en général plus grosses. Le dépôt actif du radon (ou de gaz de fission) a fait l'objet de nombreuses études en liaison avec la radioprotection dans les mines d'uranium. Non fixé sur l'aérosol atmosphérique, il correspond à des particules d'environ 1,5 nm [1].

La figure 1 présente à titre de comparaison la dimension de différents types de nanoparticules (entre 1 et 100 nanomètres) tels les virus, qui ont des dimensions autour de 10 nm, et d'autres particules issues des combustions et transformations chimiques.



**Figure1 : Distribution en taille de différents types de particules incluant les nanoparticules.**

## Des nanoparticules naturelles et/ou anthropiques

Les nanoparticules, appelées il y a encore quelques années particules ultra fines, constituent une grande partie de l'aérosol atmosphérique, lorsque la concentration est mesurée en nombre par unité de volume. Elles se forment **lors des combustions**, la proportion de nanoparticules dépendant de la nature et la qualité de la combustion. Une combustion complète du carbone donne essentiellement du gaz carbonique. Les particules émises lors des combustions sont constituées de carbone non brûlé, mais aussi des impuretés du combustible. Les moteurs Diesel, la combustion de la biomasse, la fumée de cigarette ont ainsi une part importante, mais variable, des particules émises dans le domaine des nanoparticules.

**Les réactions "gaz solide"** qui sont des réactions chimiques ou photochimiques entre gaz, avec un produit des réactions sous forme particulaire, donnent majoritairement des particules dans le domaine des nanoparticules. Ces réactions se produisent dans l'atmosphère avec des gaz d'origine naturelle, comme les terpènes ou l'isoprène, des composés du soufre, etc., ou avec des gaz provenant des émissions anthropiques comme le dioxyde de soufre qui donne des sulfates, les oxydes d'azote des nitrates, etc. On peut ajouter à cette catégorie le dépôt actif de gaz radioactif comme le radon qui, non fixé, donne des particules de l'ordre du nanomètre (*cf. Annexe I-3*).

Les nanoparticules peuvent aussi se former par **condensation d'une vapeur**. La dimension des particules formées dépend de la supersaturation de la vapeur. Des sels comme le chlorure de sodium, les métaux, des oxydes métalliques, chauffés à des températures de quelques centaines de degrés ont été largement utilisés comme générateurs d'aérosols ultrafins, avec des dimensions de particules recouvrant l'ensemble du domaine des nanoparticules, c'est-à-dire entre 1 et 100 nm [2].

Les nanoparticules ont aussi été obtenues **par pulvérisation** d'une solution liquide d'un sel puis évaporation du liquide des particules [2].

Les nanoparticules se forment donc de façon fréquente dans notre environnement, de façon naturelle ou consécutivement aux actions humaines. La fabrication de nanoparticules a été largement utilisée pour l'étude expérimentale des particules d'aérosol et la vérification des théories [3].

**Les nanoparticules manufacturées provenant des nanotechnologies** correspondent en général, au départ, à des particules dont le spectre est monodispersé, c'est-à-dire centré sur une dimension avec une dispersion faible. Selon leur nature et leur forme on distingue différentes catégories de nanoparticules manufacturées comme décrit dans l'encadré suivant.

### **Nanoparticules manufacturées (ou intentionnelles)**

Nano objets de forme et taille contrôlées conçus pour remplir une fonction (ex. : les dendrimères, polymère de structure bien définie)

Métaux, semi-conducteurs, oxydes métalliques, carbone, polymères composites  
Céramiques

Nanosphères, fils, aiguilles, tubes, enveloppes, anneaux, plaquettes (ex. : nanotubes de carbone)

Molécules (fullerènes) et complexes

Agrégats moléculaires ou atomiques non traités ou enrobés (nanotechnologie appliquée à de nombreux produits : cosmétiques, médicaments, textiles, électronique, optique, afficheurs, etc...) :

- matériaux nanostructurés ;
- matériaux mésoporeux (zéolites artificielles) ;
- nanomatériaux greffés ;
- nanomatériaux interactifs (ou intelligents).

A l'émission, les nanoparticules présentent des propriétés qui dépendent de leur processus de formation. Du fait de leur petite taille et de leur composition chimique initiale, en particulier en surface, les nanoparticules dites «primaires» vont se transformer rapidement dans l'atmosphère (particules secondaires) en raison de phénomènes de :

- réactivité chimique modifiant la composition élémentaire de surface des particules secondaires ;
- coagulation qui va modifier la granulométrie de l'aérosol.

Ces phénomènes sont très importants à prendre en considération car la connaissance des propriétés d'une nanoparticule manufacturée dans des conditions expérimentales données (particules primaires) peut ne plus correspondre aux propriétés de l'aérosol auquel sera exposé l'homme.

Quelle que soit leur origine, les nanoparticules présentent des propriétés physiques communes qui dépendent notamment de leurs dimensions.

## 1. Comportement des nanoparticules dans l'aérosol

Dans un gaz le comportement dynamique des nanoparticules est régi essentiellement par l'agitation brownienne ou agitation thermique (*cf Annexe I-2*), qui est d'autant plus importante que la dimension est petite. Cette agitation entraîne un dépôt rapide sur les parois d'une conduite, une efficacité de filtration qui augmente lorsque la dimension des particules diminue (au dessous de 100 nm), un dépôt dans l'appareil respiratoire mais avec un arrêt partiel dans les voies aériennes supérieures pour les plus fines, c'est-à-dire quelques nanomètres (*cf. Figure 3* présentée *page 17*).

Introduites dans un gaz contenant déjà des particules, les particules ultrafines, en raison de cette agitation brownienne, vont se "coaguler" entre elles et avec les particules présentes. Le coefficient de coagulation, comparable au coefficient de vitesse d'une réaction chimique, est d'autant plus grand que les particules ont des dimensions différentes. Pour un aérosol mono dispersé le coefficient de coagulation varie peu avec la dimension des particules. La coagulation entraîne un grossissement des particules et une diminution de la concentration numérique. Les nanoparticules peuvent se fixer sur des particules plus grosses, si ces dernières sont en nombre suffisant et elles sont transportées par ces particules, les propriétés mécaniques étant alors différentes. Il faut en tenir compte pour le dépôt dans l'appareil respiratoire, ainsi que pour la filtration. La coagulation est d'autant plus efficace que les concentrations numériques sont importantes. Elle limite la durée de vie des nanoparticules dans un aérosol dense. La concentration en masse n'est pas affectée par ce phénomène. Pour donner un ordre de grandeur, pour des particules identiques, pour lesquelles le phénomène est le moins intense, il faut 33 minutes pour diviser par 2 la concentration numérique d'un aérosol ayant  $10^6$  particules/cm<sup>3</sup>, 20 secondes pour une concentration de  $10^8$  particules/cm<sup>3</sup>. Le spectre granulométrique d'un aérosol ultrafin ne peut être considéré comme stationnaire si la concentration numérique est trop élevée.

En raison de ce phénomène de coagulation, du nombre élevé de particules dans l'aérosol atmosphérique (de  $10^3$  à  $10^6$  particules par cm<sup>3</sup>), la présence dans l'environnement (en dehors des milieux de travail) de nanoparticules non fixées est peu probable et si elles sont présentes elles sont difficiles à mesurer ou à surveiller par les méthodes classiques de mesure des particules ultrafines. Un prélèvement, suivi d'une analyse chimique ou physico chimique, semble nécessaire.

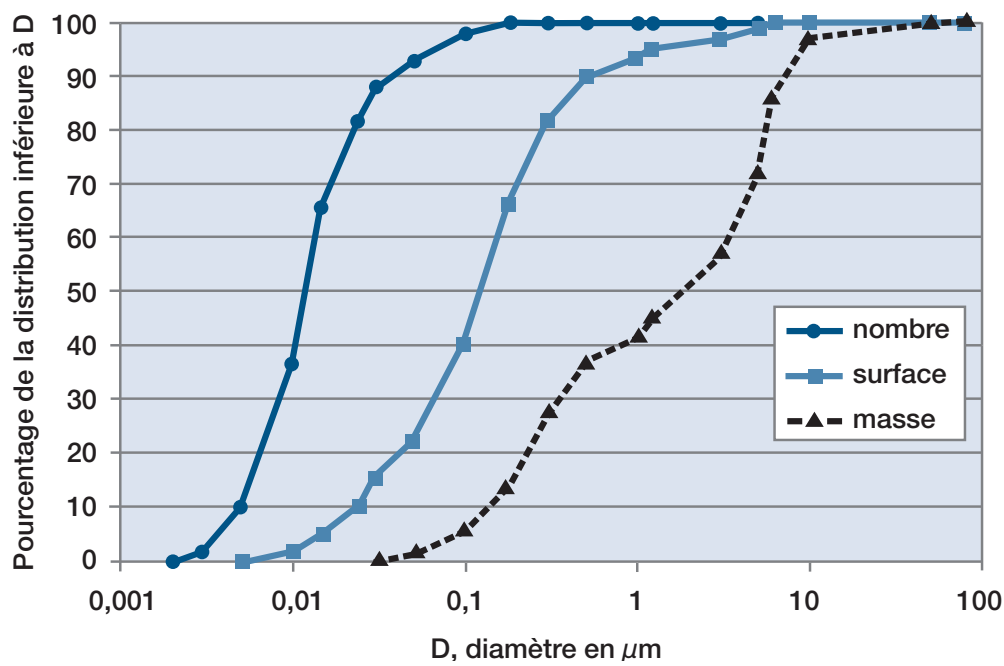
## 2. Réactivité des nanoparticules

La réactivité, en particulier chimique, d'une particule dépend de sa surface. Le rapport surface/volume augmente d'un facteur 10 lorsque la dimension est divisée par 10; la proportion d'atomes ou molécules en surface par rapport au nombre total d'atomes ou de molécules augmente dans le même rapport. Pour une même concentration massique la surface des particules augmente d'un facteur 10 lorsque la dimension diminue de ce même facteur. Ainsi pour des particules sphériques de 5 nm de diamètre et de masse spécifique 1,5 g/cm<sup>3</sup>, la surface est de 2,4 cm<sup>2</sup>/μg, ce qui correspond à une surface importante. En effet avec des particules de 5 μm il faut une masse de 1 mg pour avoir la même surface. On peut donc penser que la réactivité des particules avec les tissus biologiques sera d'autant plus grande que la dimension est petite, pour une même concentration massique. Doit-on pour autant mesurer la surface des particules ?

Les particules d'un aérosol peuvent adsorber à la surface, comme dans le cas de la catalyse, des molécules du gaz. Cette propriété peut être envisagée en sens inverse, pour introduire volontairement une couche sur les particules, dans le but de les protéger ou les fonctionnaliser.

Dans le cas d'un spectre étendu, la fonction de distribution en masse (*cf. Annexe I-1*) représente les plus grosses particules. Les particules les plus fines qui ont des masses négligeables, bien que leur nombre puisse être important, sont mal prises en compte. Au contraire ce sont les particules les plus grosses qui ne sont pas prises en compte dans la mesure du nombre, en raison de leur faible nombre par rapport à l'ensemble des particules. La mesure de la surface prend mal en compte les deux extrémités du spectre, les plus fines et les plus grosses qui ont des parts relatives faibles dans la surface totale des particules. Dans le cas de l'aérosol atmosphérique, en pratique, une fonction de distribution ne peut prendre en compte l'ensemble du spectre (*cf. Figure 2* présentée *page 16*).

C'est donc dans le cas d'un spectre étendu, le choix de la partie du spectre que l'on identifie comme pertinent pour les problèmes de santé qui dicte la fonction de distribution qu'il faut mesurer. On obtient par le calcul les autres distributions dimensionnelles (pour la partie qui a été mesurée).



**Figure 2. Représentation du spectre granulométrique d'un même aérosol de type urbain, avec des courbes cumulatives des fonctions de distribution en nombre, en surface et en masse.**

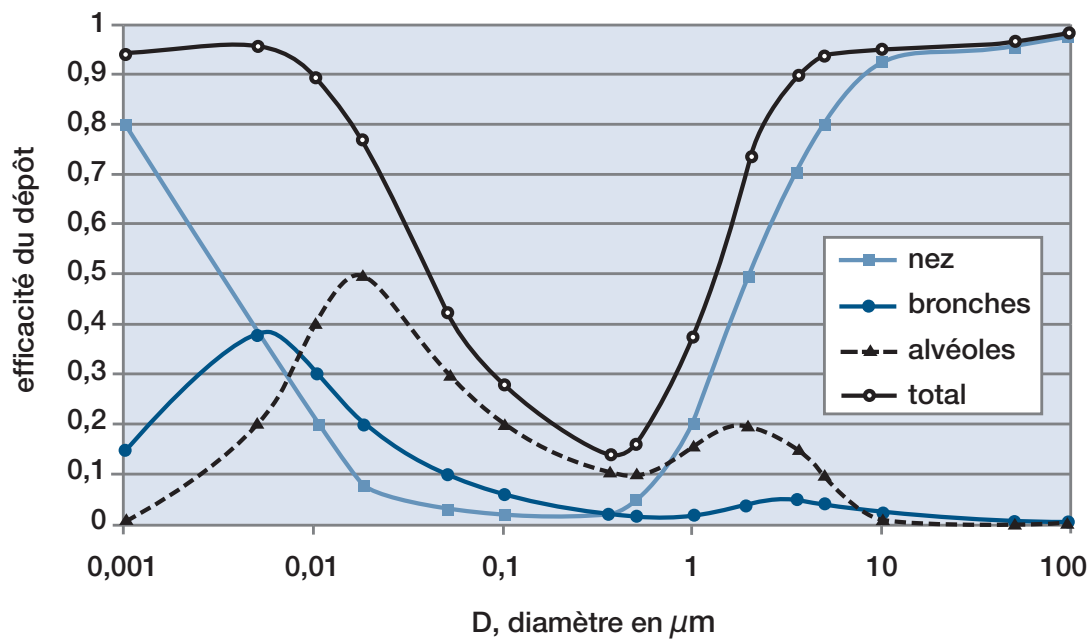
Les courbes donnent le pourcentage de la distribution totale, inférieure au diamètre D. 36 % de la distribution en nombre est en dessous de 0,01 μm (ou 10 nm), 4,8 % de la distribution en surface et une quantité négligeable de la distribution en masse. En dessous de 0,1 μm les pourcentages sont respectivement de 98 %, 40 % et 5 % pour les différentes distributions (nombre, surface, masse). Enfin au dessous de 1 μm les chiffres sont respectivement de 100, 93 et 41 %. On voit donc que le choix de la mesure de la masse, de la surface ou du nombre, pour un aérosol polydispersé, dépend de la partie du spectre que l'on souhaite favoriser.

### 3. Cas des particules non sphériques

La mécanique et la physique des particules non sphériques et en particulier des cylindres (cas des nanotubes) sont difficiles à généraliser en raison des formes très variables que l'on peut rencontrer. La rotation de la particule dans le gaz, lors de son transport, complique beaucoup l'aspect théorique, qui est déjà complexe pour des particules sphériques. Dans le cas de particules cylindriques, de dimension micronique, des coefficients de correction à la force de Stokes (la force qui s'exerce sur la particule en raison de la viscosité du gaz) ont été calculés pour différentes orientations de la particule en mouvement relatif dans le gaz.

## 4. Modèles de dépôt des particules dans les voies respiratoires

Quelle que soit leur forme, les particules vont se déposer dans les voies aériennes en fonction de leur diamètre aérodynamique moyen  $Da$ , qui correspond à la dimension d'une particule sphérique de densité égale à 1, ayant un comportement aérodynamique identique à celui de la particule considérée (cf. Figure 3).



**Figure 3. Courbes donnant l'efficacité du dépôt des particules dans différentes parties de l'appareil respiratoire en fonction de leur dimension**

(d'après le modèle de la Commission Internationale de Radioprotection [4-5]).

Ce modèle est confirmé par des études plus récentes, bien qu'il y ait encore un manque de données expérimentales. Les nanoparticules se trouvent en dessous de 0,1 µm. L'efficacité du dépôt augmente, pour les différentes parties de l'appareil respiratoire, lorsque la dimension de la particule diminue de 0,1 à 0,01 µm. A  $10^{-3}$  µm soit 1 nm, 80 % des particules sont arrêtées par le nez. Il faut toutefois noter que ces particules ont des durées de vie courte en raison de la fixation de molécules gazeuses, du phénomène de coagulation. On peut ainsi les retrouver sur des particules plus grosses. Le dépôt peut être modifié par des charges électriques, par l'absorption ou la condensation de vapeur d'eau (si les particules sont solubles dans l'eau).

## 5. Métrologie des particules ultrafines

### 5.1 Les méthodes physiques [6-7]

Le mesurage comporte le prélèvement, la mesure des concentrations en nombre, en surface ou en masse, la détermination du spectre granulométrique. Les appareils existants ont été mis au point il y a déjà quelques décennies mais constamment améliorés pour la mesure de différents types d'aérosols dans l'atmosphère, en milieu de travail, etc. Les constructeurs sont peu nombreux, en particulier pour les particules ultrafines. Il faut aussi être conscient des difficultés rencontrées dans la caractérisation, le prélèvement, le mesurage, dues en partie aux incertitudes expérimentales, aux hypothèses simplificatrices introduites dans les théories.

Les particules peuvent être collectées sur des filtres, des plaques d'impacteur, fonctionnant à faible pression (jusqu'à 0,03 atmosphère dans le corps de l'impacteur). Les techniques de microscopie électronique peuvent être utilisées pour obtenir la dimension, la forme, la structure des particules. Si la particule comporte des composés volatils il y a risque d'évaporation lors de la mise sous vide de l'échantillon et lors du bombardement par le faisceau d'électrons. La microscopie est très utile lorsque la particule n'est pas sphérique, lorsqu'il s'agit de fibres, de nanotubes, etc.

Les questions de mesure sont discutées plus en détail en Annexe I-4.

## **5.2 Les méthodes physicochimiques**

Si les chimistes savent bien contrôler l'organisation de la matière en terme de propriétés chimiques, physiques ou mécaniques, il reste maintenant à pouvoir contrôler la morphologie des objets préparés. Ce contrôle devra s'exercer non seulement au niveau de l'objet isolé, mais encore lors de l'organisation de ces objets en nanomatériaux. Parmi les obstacles techniques qui restent à franchir avant des applications, il y a le manque d'outils adaptés de caractérisation et de mesures, ainsi que la capacité à contrôler et traiter les techniques s'appuyant sur les caractéristiques à l'échelle nanométrique.

## **6. Conclusions**

Les nanoparticules (venant de nanotechnologies) devraient donner en général pour une technologie, un aérosol peu dispersé au point de vue granulométrique. La diffusion brownienne est le principal mécanisme qui va gouverner l'évolution d'un aérosol de nanoparticules. Pour les particules les plus fines (de l'ordre de quelques nanomètres) les forces d'interaction entre particules ou surface-particules doivent limiter leur dispersion sous forme très fine. Des précautions doivent toutefois être prises pour éviter la dispersion en milieu de travail. Dans l'environnement ces particules doivent se fixer rapidement sur l'aérosol atmosphérique, ce qui rend plus difficile leur mesure et le monitoring. Les nanoparticules incluses dans des supports comme les peintures, les pneumatiques, dispersées par suite d'usure du support, seront difficiles à caractériser en dehors d'analyses physico-chimiques, après collection sur un support. L'efficacité de la filtration doit en principe diminuer avec les plus grosses, c'est-à-dire autour de 100 nm. Pour les plus fines, quelques nanomètres, les forces d'interaction augmentent lorsque la dimension diminue, mais les connaissances sur les forces d'adhésion doivent toutefois être approfondies.

## RÉFÉRENCES :

- [1] Huertas M.L., Marty A.M., Fontan J., Blanc D. Measurement of the mobility and the diffusion coefficient of ultrafine radioactive particles in the air. *Journal of the Atmospheric Science*, 1969, vol 26, n°2, p 274-280.
- [2] Hidy G.M., Brock J.R. Topics in current aerosol research systems (International review in aerosol physics and chemistry, vol II). Pergamon Press, 1971.
- [3] Hidy G.M., Brock J.R. The dynamics of aerocolloidal systems (International review in aerosol physics and chemistry, vol I). Pergamon Press, 1970.
- [4] ICRP international commission on radiological protection; Human respiratory tract model for radiological protection. Oxford. Elsevier science Ltd, 1994.
- [5] Lastbom L., Cammer P. Deposition and clearance of particles in the human lung. *Scand. J. Work Environ. Health*. 2000; 26 (suppl.1), 23-27.
- [6] Person A., Tymen G. Mesurage des particules en relation avec la santé. *Revue Pollution Atmosphérique*, 2005, sous presse.
- [7] Renoux A., Boulaud D. *Les Aérosols Physique et Métrologie*. Lavoisier TEC DOC, 1998.

## POUR EN SAVOIR PLUS :

- Chaudret B. Chimie organométallique et nanoparticules. *L'actualité chimique*, octobre-novembre 2005, n° 290-291, pp. 33 – 43.
- Corriu R., Verdaguer M. Chimie moléculaire et nanosciences. *L'actualité chimique*, octobre-novembre 2005, n° 290-291, pp 14-29.
- Fontan J. Blanc D., Bouville A. .Détermination du rendement de collection des filtres à fibres pour des particules ultrafines. *Health Physics*, 1965, vol. 11, p 15-20.
- Fontan J. Terminologie pour désigner une pollution particulaire. *Pollution atmosphérique*, 2002, n°174, p 177-179.
- Fontan J. Dimensions, dimensions moyennes, fonctions de distribution d'un aérosol. *Pollution atmosphérique*, 2002, n° 175, p 327-335.
- Fontan J., Tymen G. Propriétés mécaniques et physiques d'un aérosol. *Pollution Atmosphérique*, 2003, n°178, p 167-176.
- Fontan J. *Les pollutions de l'air*, Chap.6 et 7 Vuibert Sciences, 2004.
- Fuch N. *The mechanics of aerosols*. Mac Millan, New York, 1964
- Jefferson D.A., Tilley E.E.M., *The structural and physical chemistry of nanoparticles*.
- *Particulate matter*, Edrs. R.L. MAYNARD and C.V. HOLOARD, 1999, Bios Scientific Publishers Ltd, Oxford.
- Lehn J.M. *La chimie supramoléculaire, concepts et perspectives*, de Boeck Université, 1997.
- *Nanosciences-Nanotechnologies*. Rapport de l'Académie des Sciences, Paris, Juillet 2003.
- *Nanoscience and nanotechnologies : opportunities and uncertainties*. Report of the Royal society and the Royal Academy of Engineering, July 2004.
- *Report potential risks nanoparticules*, A. first UK government research report, Department for Environment, Food and Rural Affairs, nov. 2005, 57 p.
- Rousset A. Sur quelques aspects des nanomatériaux. *L'actualité chimique*, juillet 2005, n° 288, pp.15-25.
- Wang H.C., Kasper G. Filtration efficiency of nanometer-size aerosol particles. *J. aerosol Sci.*, 1991, vol 22, n°1, pp 31-40.

## SECTION 2 : PRODUCTION ET UTILISATION

Depuis longtemps, de nombreux procédés de fabrication produisent non intentionnellement des particules ultrafines. Ce n'est que récemment qu'on a disposé de moyens d'observation et de manipulation de particules de très faibles dimensions, permettant de nombreuses innovations techniques. Cette possibilité technologique a donné lieu à de nombreuses recherches et à des développements industriels rapides. Le ministère chargé de l'Industrie envisage un marché qui doublerait tous les 3 ans, quelle que soit la catégorie de nanomatériaux considérés [1]. L'avenir est donc décrit comme «prometteur».

Pour autant, les nanoparticules intentionnellement fabriquées posent des problèmes nouveaux dans les domaines toxicologique et écotoxicologique, qui seront décrits dans le chapitre suivant. Pour mesurer l'ampleur du risque, et définir les actions de prévention (*cf. Chapitre 3 – Section 2*), il importe d'identifier les domaines actuels d'usage et les filières de production.

### 1. Les domaines d'usage

Les domaines d'usage potentiels des nanotechnologies sont très nombreux (rapport Le Marois) : les économies d'énergie des véhicules de transport, le développement des énergies renouvelables, la réduction des pollutions, la filtration de l'eau potable, les matériaux de construction, les applications médicales, la cosmétique, la pharmacie, les technologies de traitement de l'information, le renforcement des pneumatiques, l'optique, les textiles, le marquage, les peintures, les encres, etc. (*cf. Annexe II*).

On peut donc s'attendre à un développement rapide de l'usage des nanoparticules dans un grand nombre d'industries, notamment dans l'agro-alimentaire, l'aéronautique, l'automobile, la chimie, la construction, la cosmétique, la défense, l'électronique, la production d'énergie, l'optique, la pharmacie, le textile, etc.

Les plus grandes utilisations industrielles actuelles sont liées à la fabrication des pneumatiques (oxyde de silicium) et pour la formulation des cosmétiques, avec une consommation dépassant 1000 tonnes par an (principalement d'oxyde de titane). Les autres usages actuels semblent ne pas dépasser chacun 10 tonnes par an, mais sont promis à une forte croissance.

### 2. Les procédés de fabrication

Il existe un grand nombre de techniques qui permettent de créer des nanostructures, soit en réduisant la taille de microsystèmes existants (méthode «top down»), soit en créant des structures à l'échelle atomique ou moléculaire (méthode «bottom up»).

Les méthodes «top down» regroupent des procédés mécaniques (broyage, frittage...), lithographiques (dessin à l'aide d'une pointe à balayage), la production d'agrégats en phase gazeuse (vaporisation suivie de condensation), l'érosion (par exemple laser), la pyrolyse laser. Ces méthodes produisent un volume important de déchets.

Les méthodes «bottom up» regroupent la synthèse chimique, l'auto-assemblage des atomes ou molécules par interactions faibles, l'assemblage orienté atome par atome ou molécule par molécule (méthodologie de laboratoire difficilement applicable dans l'industrie). Ces méthodes sont moins exigeantes en énergie et produisent moins de déchets que les précédentes.

Les nanoparticules sont intentionnellement produites :

- à de faibles quantités (quelques kilogrammes), par les laboratoires de recherche privés et publics (universités, CNRS...) ;
- à des quantités moyennes (quelques dizaines de kilogrammes) par des «start-ups» ;
- pour les tonnages les plus importants (plusieurs milliers de tonnes), par de grandes entreprises de la chimie, de l'optique, de la pharmacie, du secteur de l'environnement, de la défense, etc.

Il existe donc d'un côté une organisation spécifique pour la production des nanoparticules dans un très petit nombre d'entreprises productrices hautement spécialisées, d'un autre un usage qui se répand dans un grand nombre d'industries utilisatrices mettant en œuvre des procédés conventionnels (par exemple pour la fabrication des pneumatiques).

### **3. Sous quelles formes peut-on trouver les nanoparticules ?**

#### **3.1 Conditionnement**

L'organisation des flux de nanoparticules entre entreprises productrices et utilisatrices est laissée au bon vouloir des fournisseurs et aux exigences des clients. Certaines nanoparticules sont livrées aux industries utilisatrices sous forme de poudre. Compte tenu de leur forte tendance à l'agrégation, ces poudres n'ont pas un aspect habituel (type farine sèche), mais plutôt celui de la farine humide.

Certaines entreprises productrices indiquent en revanche ne livrer à leurs clients les nanoparticules que dans des préparations liquides, ou dans des matrices de liants. Dans de tels cas, les nanoparticules ont une faible probabilité d'être émises dans l'air, sauf érosion des liants mécaniques ou dispersion sous forme de spray.

#### **3.2 Mise en circulation dans l'environnement**

La mise en circulation de particules ultrafines dans l'environnement est possible :

- sous forme d'aérosols ou d'hydrosols au moment de leur fabrication ;
- sous forme d'aérosols au moment de la manipulation de formes en poudre. «A l'heure actuelle on ne sait quasiment rien des caractéristiques de l'aérosol ultrafin qui serait mis en situation en pareille situation» (Witschger et Fabriès, op. cit. [2]) ;
- par abrasion ou vieillissement des structures qui les maintiennent (par exemple, l'usure des pneumatiques), mais la forte tendance à l'agrégation des nanoparticules limite fortement la probabilité qu'elles restent alors sous forme nanométrique ;
- par libération, par exemple, à partir de préparations liquides ou visqueuses appliquées sur la peau ;
- par rejet d'effluents liquides ou gazeux par les installations de production ou de traitement (des emballages, filtres, etc.).

#### **3.3 Gestion des déchets**

A l'heure actuelle, il n'existe ni méthode ni préconisation pour la prise en compte du risque particulier que pourraient poser les déchets comportant des nanoparticules. Par exemple, pour gérer les cendres volantes produites par l'incinération des déchets, il a été proposé un inertage expérimental thermique par torche à plasma (vitrification) qui présente l'inconvénient d'être très coûteux en énergie.

#### **3.4. Traçabilité**

Les connaissances sont actuellement très pauvres sur la mise en circulation de nanoparticules dans l'environnement. Les recherches industrielles sont à la fois confidentielles et cloisonnées, portant

d'un côté sur les propriétés des nanoparticules au moment de leur production, et de l'autre sur le comportement des matériaux qui les incorporent ensuite. Les entreprises productrices n'ont pas connaissance des éventuels résultats obtenus par les industries aval (par exemple en ce qui concerne le devenir des nanoparticules lors de la destruction des pneumatiques).

#### 4. La population exposée

Les données françaises disponibles ne permettent pas d'estimer la population actuellement exposée et son développement.

Un rapport britannique de 2004 [3] propose les estimations suivantes pour le Royaume-Uni :

- actuellement 500 travailleurs directement exposés dans la production des nanoparticules, et 102 000 potentiellement exposés à leur manipulation dans les industries utilisatrices ;
- d'ici 15 ans, environ 660 000 travailleurs exposés par la production et l'utilisation industrielles.

La population professionnelle exposée par la fabrication, la mise en œuvre et l'usage des nanoparticules va croître rapidement, de façon centralisée et traçable pour la fabrication, de façon dispersée et peu identifiable pour la mise en œuvre et pour le traitement des déchets.

Les travailleurs de la manutention, de la maintenance, du nettoyage, ou de l'élimination des déchets doivent aussi être pris en considération dans l'estimation de l'exposition, même s'ils appartiennent à des entreprises sous-traitantes.

L'exposition des consommateurs croîtra également rapidement, soit par utilisation explicite et contrôlée des nanoparticules (cosmétiques, nouveaux médicaments), soit par relargage de celles-ci à partir de substances dont elles visent à modifier les propriétés, sans que le consommateur soit averti de leur présence. De même, l'exposition des riverains d'installations productrices ou utilisatrices devra faire l'objet d'une surveillance et le cas échéant, de mesures correctrices adaptées.

#### 5. En conséquence

Les potentialités technologiques des nanoparticules ouvrent des perspectives scientifiques et industrielles multiples. Les publications de diffusion de l'information scientifique, par exemple le journal du CNRS [4], développent longuement tous les usages possibles des nanoparticules. Néanmoins la direction qui sera prise par cette croissance reste assez spéculative. Par ailleurs, on constate un problème de traçabilité, de transparence et de circulation de l'information sur ce qui est produit et sur l'identification des personnes exposées.

Il est donc nécessaire d'accompagner le développement des nanotechnologies par la mise en place d'un système de veille industrielle permettant un suivi du point de vue de la santé environnementale.

#### **RÉFÉRENCES :**

[1] Le Marois G., Plan «nanomatériaux» - 10 propositions d'actions concrètes. Derian PJ, Avant-propos. Rapport DGE/SIMAP/ITVM. Paris : Ministère chargé de l'Industrie, 2005.

[2] Witschger O, Fabriès JF. Particules ultra-fines et santé au travail. 2- Sources et caractérisation de l'exposition. Cahiers de notes documentaires - INRS 2005;199:37-54.

[3] Institute of Occupational Medicine, Nanoparticles : an occupational hygiene review, Research report 274, Health and Safety Executive, 2004.

[4] La déferlante nano, Le journal du CNRS n° 189, Octobre 1985.

## **CHAPITRE 2 :**

---

# **QUELS DANGERS, QUELS RISQUES ?**

## SECTION 1 : ASPECTS TOXICOLOGIQUES ET SANITAIRES

L'impact potentiel sur la santé de l'exposition aux nanoparticules manufacturées est actuellement encore peu évalué. Les éléments dont on dispose peuvent être regroupés en deux grandes catégories : les données expérimentales et les données humaines.

Il importe au préalable de rappeler que les recherches disponibles et/ou en cours sur les effets sanitaires des nanoparticules manufacturées portent, pour la quasi-totalité, sur 3 types de particules :

- des **mélanges de nanoparticules prélevées dans l'atmosphère** en rapport avec la pollution urbaine ou avec certains environnements industriels (autrement appelées particules ultrafines). Ces études prennent en compte des nanoparticules associées aux autres composants des aérosols complexes indissociables les uns des autres du fait des modalités de leur génération. C'est le cas de la fraction ultrafine de la pollution atmosphérique ou des aérosols prélevés à proximité immédiate de leurs sources (particules diesel, fumées de soudage, cendres volantes, ROFA (*Residual Oil Fly Ashes*), métaux adsorbés à leur surface dans les particules diesels). Ces études ne permettent pas de faire la part des effets biologiques dûs aux nanoparticules de ceux qui sont liés à leurs composants ;
- des **nanoparticules synthétisées spécifiquement en vue de recherches toxicologiques** et ayant des caractéristiques se rapprochant des nanoparticules manufacturées ou de celles générées spontanément ; il s'agit de particules carbonées (noir de carbone, carbone élémentaire), de particules métalliques, de céramiques ou de polymères ;
- des **nanoparticules manufacturées**, fournies par les industries de production ou les laboratoires de recherche qui travaillent pour ces industries (fullerènes, nanotubes de carbone, certains oxydes métalliques (titane, zinc, etc.).

Une difficulté dans l'analyse des effets des nanoparticules manufacturées vient de leur instabilité. Entre le moment où elles sont générées et celui où elles entrent en contact avec l'homme, 2 phénomènes difficiles à contrôler (car peu reproductibles) dans les modèles expérimentaux, peuvent se produire :

- l'agrégation ou l'agglomération des particules entre elles, modifiant la distribution granulométrique des échantillons ;
- l'adsorption de substances chimiques présentes dans les milieux où sont préparés et utilisés les particules testées (atmosphère, milieu de culture cellulaire ...) en raison de la grande réactivité de surface qui caractérise les nanoparticules indépendamment de leur composition initiale.

La toxicologie des particules n'est pas une science nouvelle, comme en témoignent tous les travaux publiés tant sur des particules bien caractérisées (silice cristalline, amiante...) que sur des mélanges complexes résultant de la pollution atmosphérique. Jusque dans les années 90, l'attention des chercheurs était focalisée sur cinq paramètres prédictifs d'un effet pathogène sur l'appareil respiratoire :

- la **taille**, qui détermine les modalités de pénétration et de déposition dans les voies aériennes ; elle est utilisée pour construire les normes d'exposition en milieu industriel [particules respirables ou alvéolaires de moins de  $5\text{ }\mu\text{m}$ ] ou dans l'environnement général [particules de moins de  $10\text{ }\mu\text{m}$  de diamètre :  $\text{PM}_{10}$ , ou de moins de  $2,5\text{ }\mu\text{m}$  :  $\text{PM}_{2,5}$ ] ;

- la **forme**, avec la mise en évidence de l'effet «fibre», induit par les particules longues [longueur > 8  $\mu\text{m}$ ] et fines [diamètre < 0,25  $\mu\text{m}$ ], indépendamment de leur composition chimique ;
- la **biopersistance**, assimilée au temps de rétention dans l'appareil respiratoire, paramètre utilisé dans le classement des fibres minérales synthétiques ;
- la **structure cristalline** éventuelle pour les particules minérales ;
- la **composition chimique** (chimie globale, chimie de surface et contamination).

Ce n'est qu'à partir de 1994 que l'influence de la très petite taille des particules sur les effets biologiques au niveau cellulaire et tissulaire a été évoquée : pour une même masse de particules dans l'air, les effets biologiques des particules de dioxyde de titane ( $\text{TiO}_2$ ) étaient significativement plus importants lorsque la matière était divisée en particules de 20 nm que lorsqu'elle était sous forme de particules de 200 nm.

Depuis cette constatation, de nombreuses publications scientifiques ont contribué à mieux décrire les effets potentiels des nanoparticules sphériques ou allongées. Plusieurs difficultés majeures rendent cependant l'analyse de la littérature scientifique disponible sur ce sujet encore délicate :

- la caractérisation physico-chimique souvent incomplète des particules testées ou analysées ;
- l'expression très discutable de la dose externe ou interne (en masse la plupart du temps) ;
- l'absence de classement des particules permettant des regroupements des données disponibles ;
- une absence de standardisation des méthodes de production des particules et de mesure des effets rendant difficile la comparaison des études entre elles.

Dans la pratique, chaque type de nanoparticule doit être actuellement considérée comme unique et devrait faire l'objet d'une investigation toxicologique spécifique indépendante des tests toxicologiques traditionnels déjà réalisés sur les espèces chimiques entrant dans la composition de ces particules.

Seuls les résultats concernant les particules solides peu solubles seront abordés ici, ceux sur les particules solubles relevant plus de la toxicité chimique élémentaire et les nanocolloïdes sont plutôt utilisés à des fins bio-médicales, champ exclu de cette saisine.

***Il est important de souligner que, dans les études expérimentales, les niveaux de dose délivrés à la cellule sont souvent très élevés par rapport à ceux qui correspondraient aux expositions humaines.***

## **1. Approche expérimentale**

Les modèles expérimentaux représentent l'essentiel de nos connaissances dans le domaine des effets sanitaires des nanoparticules. On peut les classer en 2 catégories :

- les modèles *in vitro* (études réalisées sur des cellules isolées cultivées) ;
- les modèles *in vivo* (études réalisées sur l'animal entier) ou *ex vivo* (études réalisées sur des tissus isolés).

### **1.1. Les modèles in vitro**

Les modèles *in vitro* étudient l'interaction entre les particules et les cellules cultivées, et la réponse biologique qui en résulte (cf. Tableaux 1 et 2, Annexe III-1).

A masse égale, trois résultats clés ont été obtenus :

- à composition chimique et forme identiques, la réponse biologique (stress oxydant, réponses pro-inflammatoires ou cytotoxiques, transformation cellulaire) augmente avec

la surface spécifique des particules. Ainsi, des particules sphériques de dioxyde de titane ou de carbone (graphite) de taille micrométrique n'entraînent pas de réponse biologique significative, alors que les mêmes particules de taille nanométrique entraînent, pour des concentrations pondérales équivalentes dans l'air ou le milieu de culture, des réponses biologiques mesurables.

- à composition chimique et dimensions identiques, la réponse biologique augmente lorsque la forme de la particules s'allonge : ainsi les nanotubes de carbone sont plus réactifs que les nanosphères de carbone de diamètre aérodynamique équivalent (rappelant l'effet fibre déjà évoqué, probablement lié à un dysfonctionnement de la fonction phagocytaire des macrophages, elle-même secondaire à la longueur trop importante des fibres par rapport à la taille des cellules).
- à dimensions et forme données, la réponse biologique dépend de la composition chimique de la particule, soit du fait de la solubilisation partielle d'espèces chimiques toxiques (métaux de transition en particulier), soit du fait du nombre et de la nature des sites réactifs de surface disponibles au moment du contact entre la particule et les membranes biologiques. Une réponse chimique peut être induite par la désorption de xénobiotiques adsorbés à la surface de la particule (traces métallique, qui peuvent atteindre quelques pourcents, en rapport avec les catalyseurs utilisés pour produire les nanoparticules, composés organiques piégés sur la particules à un stade variable de sa synthèse ou de son séjour dans l'atmosphère).

Les mécanismes moléculaires de ces effets sont encore mal compris, mais il existe des arguments pour évoquer un stress oxydatif cellulaire et la formation de médiateurs cellulaires de l'inflammation. Trois voies principales ont été identifiées dans le déclenchement de cette réponse :

- la stimulation directe de récepteurs protéiques de membranes par la particule ;
- la lipoperoxydation des phospholipides membranaires par les radicaux libres générés à la surface de la particule ;
- l'altération directe de composants intra cytoplasmiques, intra mitochondriaux ou intra nucléaires après internalisation des nanoparticules.

Par ailleurs des effets non spécifiques ont été observés, en rapport avec des anomalies des mécanismes de l'internalisation (phagocytose) des particules,

- soit du fait de la saturation des capacités cellulaires de phagocytose (effet de surcharge, en anglais «*overload effect*») ;
- soit du fait d'une phagocytose incomplète ou «contrariée» de particules très allongées (effet fibre).

## 1.2. Les modèles in vivo et ex vivo

Les modèles in vivo et ex vivo sont plus difficilement mis en œuvre dans les études portant sur les nanoparticules, du fait de leur coût (très peu de recherches de ce type dans les laboratoires publics) et des problèmes rencontrés dans la génération d'un aérosol nanométrique stable (problèmes liés à l'aggrégation ou l'agglomération rapide de certaines nanoparticules fraîchement émises). ( cf. Tableaux 3-4-5-6, Annexe III-1)

Les conclusions sont cohérentes avec celles des modèles in vitro qu'elles confortent. Elles permettent de préciser certains types de réponses tissulaires (inflammation, fibrose) et systémiques (réponse cardio-vasculaire, réponse du système nerveux central). Elles ne permettent pas actuellement de répondre formellement à un éventuel effet cancérigène.

Ces conclusions apportent des informations complémentaires sur les modalités de pénétration des nanoparticules dans l'organisme animal, en particulier l'existence des passages suivants :

- transcutané ;
- vers le système nerveux central via le nerf olfactif ;
- à travers la barrière alvéolo-capillaire pulmonaire ;
- transplacentaire ;
- à travers la muqueuse intestinale ;
- à travers la barrière hémato-encéphalique.

Ces diverses modalités de passage des nanoparticules font encore l'objet de nombreuses discussions sur leurs mécanismes (mécanisme passif ou actif, circonstances facilitant la pénétration), et leur importance. C'est pourquoi il n'est actuellement pas possible de savoir si la réponse cardio-vasculaire observée après inhalation de nanoparticules est secondaire à la réponse inflammatoire locale des voies aériennes ou de l'interstitium pulmonaire (rôle des cytokines et autres médiateurs de l'inflammation locale), ou si elle est secondaire au transfert des particules dans le secteur vasculaire sanguin (interaction directe des particules avec les composants intravasculaires comme les facteurs de la coagulation sanguine).

Au final, les mécanismes d'action pathogènes dépendent de la pénétration, du passage de barrière, d'éventuels changements des réactivités chimiques et biochimiques dus à la taille, de l'effet vecteur des nanoparticules vis-à-vis d'autres xénobiotiques provenant de sources environnementales.

## **2. Approche chez l'homme**

Les résultats des études expérimentales chez l'animal ne sont pas directement transposables à l'homme (réponse cellulaire versus réponse tissulaire, extrapolation inter espèces, niveaux de dose irréalistes par rapport aux expositions chez l'homme). C'est la raison pour laquelle les quelques études disponibles chez l'homme sont importantes. On dispose de 3 types d'études

### **2.1. Etudes de dépôt dans l'appareil respiratoire ou de rétention dans les tissus**

Dans le premier cas (dépôt), il s'agit de mesurer la fraction déposée de particules provenant d'un aérosol calibré inhalé dans les mêmes conditions expérimentales que les précédentes études. Dans le deuxième cas (rétention), il s'agit de mesurer les particules ultrafines provenant de la pollution atmosphérique présentes dans le tissu pulmonaire, prélevé lors d'autopsies (*cf. Tableau 7, Annexe III-1*).

Ces études ne font que confirmer la réalité de la pénétration, la déposition et la translocation (migration dans l'organisme à partir des zones de dépôt) des particules ultrafines inhalées chez l'homme.

### **2.2. Etudes cliniques d'inhalation d'aérosols calibrés**

Il s'agit pour l'essentiel d'études de type clinique expérimental, consistant à mesurer chez des sujets volontaires, des paramètres respiratoires, (mesure des volumes et de débits respiratoires et mesure de la réactivité bronchique) et des paramètres cardio-vasculaires (mesure de la fréquence cardiaque, de la pression artérielle, de la viscosité sanguine, de l'activité électrique cardiaque, de la fonction myocardique) enregistrés en décours d'exposition à des aérosols calibrés (*cf. Tableau 7, Annexe III-1*).

Elles confirment pour la plupart l'existence de modifications à court terme des paramètres mesurés, sans que l'on puisse préjuger de leur signification en termes de morbidité ou mortalité. Néanmoins ces résultats donnent des indications sur la possibilité d'effets plus graves chez des sujets déjà malades.

### 2.3. Particules ultrafines, pollution atmosphérique et effets sur la santé

Il existe actuellement de nombreux arguments pour mettre en cause la phase particulaire de l'atmosphère dans les effets aigus et chroniques de la pollution en milieu urbain et dans certains milieux professionnels ([1] et [2]).

De plus sont apparues dans la littérature récente des séries cliniques très intéressantes qui montrent une corrélation statistique entre l'exposition aux particules ultrafines atmosphériques et certains paramètres biologiques ou fonctionnels. La signification réelle de ces résultats reste ouverte à discussion puisqu'il n'est pas possible de prendre en compte individuellement tous les facteurs qui interviennent (mélanges de particules, contaminants gazeux). Néanmoins ces données humaines sont très cohérentes avec les données expérimentales rappelées plus haut. On peut les regrouper schématiquement en fonction des effets mesurés :

- effets cardiovasculaires et thrombogènes, majorés chez les sujets ayant une insuffisance coronarienne ([3] à [11]) ;
- effets sur la fonction respiratoire des asthmatiques [12] à [16] ;
- effets sur la perméabilité épithéliale bronchique [17].

### 3. En conclusion

Il existe de multiples arguments convergents obtenus à partir des diverses approches expérimentales (études cellulaires, tissulaires chez l'animal, mais aussi études chez l'homme) pour affirmer l'existence d'une réactivité biologique particulière des nanoparticules. Celle-ci est liée probablement à la grande réactivité chimique de surface en rapport avec la très petite taille de ces particules (*cf. Section 1 du Chapitre 1*). Les nanoparticules peuvent donc représenter un danger pour l'homme. Néanmoins il n'existe pas actuellement suffisamment de données ni de méthodologies adaptées pour évaluer les risques pour la santé de l'homme.

## RÉFÉRENCES :

- [1] Maynard AD, Maynard RL. A derived association between ambient aerosol surface area and excess mortality using historic time series data. *Atmospheric Environment* 2002;36(36-37):5561-7.
- [2] Pekkanen J., Kulmala M. Exposure assessment of ultrafine particles in epidemiologic time-series studies. *Scand J Work Environ Health* 2004 ;30 Suppl 2/9-18.
- [3] Gold DR, Litonjua A, Schwartz J, Lovett E, Larson A, Nearing B, Allen G, Verrier M, Cherry R, Verrier R. Ambient pollution and heart rate variability. *Circulation* 2000;101(11):1267-73.
- [4] de Hartog JJ, Hoek G, Peters A, Timonen KL, Ibaldo-Mulli A, Brunekreef B, Heinrich J, Tiittanen P, van Wijnen JH, Kreyling W, Kulmala M, Pekkanen J. Effects of fine and ultrafine particles on cardiorespiratory symptoms in elderly subjects with coronary heart disease: the ULTRA study. *Am J Epidemiol* 2003;157(7):613-23.
- [5] Pekkanen J, Peters A, Hoek G, Tiittanen P, Brunekreef B, de Hartog J, Heinrich J, Ibaldo-Mulli A, Kreyling WG, Lanki T, Timonen KL, Vanninen E. Particulate air pollution and risk of ST-segment depression during repeated submaximal exercise tests among subjects with coronary heart disease: the Exposure and Risk Assessment for Fine and Ultrafine Particles in Ambient Air (ULTRA) study. *Circulation* 2002;106(8):933-8.
- [6] Timonen KL, Vanninen E, de Hartog J, Ibaldo-Mulli A, Brunekreef B, Gold DR, Heinrich J, Hoek G, Lanki T, Peters A, Tarkiainen T, Tiittanen P, Kreyling W, Pekkanen J. Effects of ultrafine and fine particulate and gaseous air pollution on cardiac autonomic control in subjects with coronary artery disease: The ULTRA study. *J Expo Anal Environ Epidemiol* 2005.
- [7] Janssen NA, Lanki T, Hoek G, Vallius M, de Hartog JJ, Van Grieken R, Pekkanen J, Brunekreef B. Associations between ambient, personal, and indoor exposure to fine particulate matter constituents in Dutch and Finnish panels of cardiovascular patients. *Occup Environ Med* 2005;62(12):868-77.
- [8] Chuang KJ, Chan CC, Shiao GM, Su TC. Associations between submicrometer particles exposures and blood pressure and heart rate in patients with lung function impairments. *J Occup Environ Med* 2005;47(11):1093-8.
- [9] Brunekreef B, Janssen NA, de Hartog JJ, Oldenwening M, Meliefste K, Hoek G, Lanki T, Timonen KL, Vallius M, Pekkanen J, Van Grieken R. Personal, indoor, and outdoor exposures to PM<sub>2.5</sub> and its components for groups of cardiovascular patients in Amsterdam and Helsinki. *Res Rep Health Eff Inst* 2005(127):1-70; discussion 71-9.
- [10] Henneberger A, Zareba W, Ibaldo-Mulli A, Ruckerl R, Cyrys J, Couderc JP, Mykies B, Woelke G, Wichmann HE, Peters A. Repolarization changes induced by air pollution in ischemic heart disease patients. *Environ Health Perspect* 2005;113(4):440-6.
- [11] Delfino RJ, Quintana PJ, Floro J, Gastanaga VM, Samimi BS, Kleinman MT, Liu LJ, Bufalino C, Wu CF, McLaren CE. Association of FEV<sub>1</sub> in asthmatic children with personal and microenvironmental exposure to airborne particulate matter. *Environ Health Perspect* 2004;112(8):932-41.
- [12] Penttinen P, Timonen KL, Tiittanen P, Mirme A, Ruuskanen J, Pekkanen J. Number concentration and size of particles in urban air: effects on spirometric lung function in adult asthmatic subjects. *Environ Health Perspect* 2001;109(4):319-23.
- [13] Penttinen P, Timonen KL, Tiittanen P, Mirme A, Ruuskanen J, Pekkanen J. Ultrafine particles in urban air and respiratory health among adult asthmatics. *Eur Respir J* 2001;17(3):428-35.
- [14] von Klot S, Wolke G, Tuch T, Heinrich J, Dockery DW, Schwartz J, Kreyling WG, Wichmann HE, Peters A. Increased asthma medication use in association with ambient fine and ultrafine particles. *Eur Respir J* 2002;20(3):691-702.
- [15] Delfino RJ, Sioutas C, Malik S. Potential role of ultrafine particles in associations between airborne particle mass and cardiovascular health. *Environ Health Perspect* 2005;113(8):934-46.
- [16] Lwebuga-Mukasa JS, Oyana TJ, Johnson C. Local ecological factors, ultrafine particulate concentrations, and asthma prevalence rates in Buffalo, New York, neighborhoods. *J Asthma* 2005;42(5):337-48.
- [17] Timonen KL, Hoek G, Heinrich J, Bernard A, Brunekreef B, de Hartog J, Hameri K, Ibaldo-Mulli A, Mirme A, Peters A, Tiittanen P, Kreyling WG, Pekkanen J. Daily variation in fine and ultrafine particulate air pollution and urinary concentrations of lung Clara cell protein CC16. *Occup Environ Med* 2004;61(11):908-14.

**POUR EN SAVOIR PLUS :**

- Colvin VL. The potential environmental impact of engineered nanomaterials. *Nat Biotechnol* 2003;21(10):1166-70.
- Donaldson K, Stone V, Tran CL, Kreyling W, Borm PJ. Nanotoxicology. *Occup Environ Med* 2004;61(9):727-8.
- Dreher KL. Health and environmental impact of nanotechnology: toxicological assessment of manufactured nanoparticles. *Toxicol Sci* 2004;77(1):3-5.
- Hoet PH, Bruske-Hohlfeld I, Salata OV. Nanoparticles - known and unknown health risks. *J Nanobiotechnology* 2004;2(1):12.
- Lomer MC, Thompson RP, Powell JJ. Fine and ultrafine particles of the diet: influence on the mucosal immune response and association with Crohn's disease. *Proc Nutr Soc* 2002;61(1):123-30.
- Nel A, Xia T, Madler L, Li N. Toxic potential of materials at the nanolevel. *Science* 2006;311(5761):622-7.
- Oberdorster G, Maynard A, Donaldson K, Castranova V, Fitzpatrick J, Ausman K, Carter J, Karn B, Kreyling W, Lai D, Olin S, Monteiro-Riviere N, Warheit D, Yang H. Principles for characterizing the potential human health effects from exposure to nanomaterials: elements of a screening strategy. *Part Fibre Toxicol* 2005;2:8.
- Oberdorster G, Oberdorster E, Oberdorster J. Nanotoxicology: an emerging discipline evolving from studies of ultrafine particles. *Environ Health Perspect* 2005;113(7):823-39.
- Osunsanya T, Prescott G, Seaton A. Acute respiratory effects of particles: mass or number? *Occup Environ Med* 2001;58(3):154-9.
- Witshger O, Fabriès JF. Particules ultra-fines et santé au travail. 1- Caractéristiques et effets potentiels sur la santé. *Cahiers de notes documentaires - INRS* 2005;199:21-35.
- Witshger O, Fabriès JF. Particules ultra-fines et santé au travail. 2- Sources et caractérisation de l'exposition. *Cahiers de notes documentaires - INRS* 2005;199:37-54.

## SECTION 2 : APPROCHES ÉCOTOXICOLOGIQUES

Les nanoparticules sont dès à présent introduites dans les écosystèmes terrestres et aquatiques et il est prévisible que le développement des nanotechnologies donnera lieu à un accroissement de ces apports, en quantité et diversité. L'évaluation des conséquences environnementales futures doit prendre en considération, la nature et l'importance des sources, les mécanismes et voies de transfert (atmosphère, eaux de ruissellement, rejet direct), les compartiments de stockage (eau, sols, sédiments), les espèces cibles et leurs interrelations (proie-prédateur), les effets sur les différentes populations exposées. Or, face à la diversité et à la complexité des écosystèmes concernés, les connaissances nécessaires à l'approche écotoxicologique sont actuellement extrêmement sommaires ([1]-[6]).

### 1. Les apports potentiels à l'environnement

Les apports potentiels à l'environnement de nanoparticules, fonctionnalisées ou non, sont étroitement liés au cycle de vie des nanomatériaux : production, usages, résidus ultimes. La fabrication en circuit fermé des nanomatériaux réduit au maximum les rejets dans les effluents industriels. Par contre, les émissions en système ouvert, à partir des multiples usages envisagés, sont plus difficilement évaluables et contrôlables. Actuellement des utilisations aboutissent à la dispersion de nanoproducts dans les écosystèmes (cosmétiques, encres...) et d'autres applications sont à l'étude, telles que l'emploi de nanoparticules (biopolymères, fer...) pour la dépollution des sols contaminés et des eaux souterraines [6] ou de nano tubes de carbones fonctionnalisés possédant des propriétés «antisalissures» utilisables dans les peintures antisalissures marines [7]. Les flux vers les différents compartiments de l'environnement, ainsi que les niveaux de présence, sont totalement inconnus. Toutefois l'hypothèse de la contamination des écosystèmes terrestres et aquatiques n'est pas à exclure. Une simulation [8], dont la paramétrisation n'est pas indiquée, laisse supposer que certaines tailles de nanotubes de carbone simple paroi pourraient se retrouver dans les eaux estuariennes à des concentrations de plusieurs centaines de milliers d'unités par mL. Pour les nanomatériaux qui sont très peu solubles dans l'eau leur comportement dans les milieux sédimentaires, aqueux et biologiques, dépend de leur forme physique (agrégats, agglomérats) et de leur spéciation chimique (colloïdes), lesquelles sont pour le moment très mal connues. Il semble cependant que les formes environnementales des nanoparticules libres puissent être très différentes des formes manufacturées. La persistance dans l'environnement des nanoparticules fonctionnalisées est également une donnée à prendre en compte en considérant à la fois la nature de la particule et la toxicité de sa charge.

### 2. Les effets toxiques

La toxicité des nanoparticules vis à vis des espèces animales et végétales est pratiquement inconnue et se limite à quelques rares indications. Ainsi, des agrégats colloïdaux de nano- $C_{60}$  bloquent la croissance des bactéries *Escherichia coli* et *Bacillus subtilis* à des concentrations aussi faibles que 0,4 mg/L de milieu de culture [9]. La croissance racinaire de cinq variétés de plantes (maïs, concombre, haricot, chou, carotte) est affectée par une exposition de courte durée à des nanoparticules d'alumine. Cette inhibition est réduite quand les nanoparticules sont «chargées» en phénanthrène dont les molécules occupent les sites potentiels de liaison [10].

Les très exceptionnelles expérimentations sur des animaux aquatiques (2 recensées) confirment l'existence d'écarts importants entre la toxicité de nanomatériaux d'une même famille en fonction de leur traitement chimique ou de la présence d'impuretés. La survie d'un zooplancton estuarien (*nauplii du copépode - Amphiascus tenuiremis* -) est réduite de 20% par des concentrations de 1,62 ppm de nanotubes de carbone simple paroi, alors que les mêmes matériaux purifiés par dialyse ne présentent pas de toxicité [11]. De même la dose létale 50 % 48 heures pour *Daphnia magna* varie de 0,8 ppm pour des fullerènes (n- $C_{60}$ ) préparés avec du tétrahydrofurane (THF) à plus

de 30 ppm pour les mêmes fullerènes purifiés de leurs résidus de THF (12). Des effets sublétaux ont été observés chez un poisson d'eau douce, le black bass (*Micropterus salmoides*), exposé pendant 48 heures à 0,5 ppm de fullerène :

- augmentation significative comparée aux témoins de la peroxidation des lipides du cerveau et diminution de cette même activité dans les branchies et le foie ;
- diminution du niveau de glutathion total dans les branchies [13].

Le mécanisme par lequel les nanoparticules redox-actives seraient transférées au cerveau du poisson serait comparable à celui observé chez certains mammifères, c'est-à-dire le transport sélectif par le nerf olfactif vers le bulbe olfactif.

Les résultats de cette expérimentation ne sont pas généralisables et nécessitent d'être confirmés. Toutefois, ils démontrent que certaines nanoparticules franchissent les membranes cellulaires et doivent donc être considérées comme potentiellement bioaccumulables. On notera que cette propriété est en contradiction avec le fait généralement admis que les substances chimiques de masse molaire supérieure à 700 Daltons ne sont pas suspectées de bioaccumulation [14]. Cette observation confirme le fait que l'évaluation des risques environnementaux liés aux nanoparticules ne saurait être conduite selon les modèles admis pour les substances chimiques.

Ces études sont reprises dans l'Annexe III.2.

### **3. En conclusion**

Les quelques informations disponibles concernant les aspects écotoxicologiques des nanoparticules ne permettent pas d'établir des hypothèses, ni a fortiori de tirer des conclusions, sur l'impact environnemental de l'utilisation des produits issus des nanotechnologies. Aucune évaluation des risques, y compris pour les nanostructures les plus fabriquées, n'est actuellement disponible. Toutefois les résultats de tests de laboratoire, effectués selon des méthodologies éprouvées pour les substances chimiques en général, laissent penser que les organismes vivants (microorganismes, invertébrés, vertébrés, plantes) peuvent être affectés par l'exposition à des nanomatériaux [15]. Les données fondamentales nécessaires à ces évaluations, ainsi que les protocoles de bioessais adaptés aux nanomatériaux, font actuellement défaut [16].

#### **RÉFÉRENCES :**

- [1] Colvin V. L. (2003). The potential environmental impact of engineered nanomaterials. *Nature biotechnology*. 21, 10: 1166-1170.
- [2] The Royal Society & the Royal Academy of Engineering. Nanoscience and nanotechnologies. July 2004. <http://www.nanotec.org.uk/finalReport.htm>
- [3] Dowling A. P. (2004). Development of nanotechnologies. *Nanotoday*: 30-35.
- [4] Nanoscale Science and Engineering Conference (2004). UNC Charlotte.
- [5] ETC group (2004). Nano's troubled waters: last toxic warning shows nanoparticles cause brain damage in aquatic species and highlights need for a moratorium on release of new nanomaterials. [www.etcgroup.org](http://www.etcgroup.org)
- [6] Owen R. & Depledge M. (2005). Nanotechnology and environment: risks and rewards. *Marine Pollution Bulletin*. 50: 609-612.
- [7] AMBIO Advanced Nanostructural surfaces for the control of Biofouling. <http://www.ambio.bham.ac.uk>
- [8] Ferguson P. L. et al. (2004). Chemical and biological behavior of carbon nanotubes in estuarine sedimentary systems. <http://www.es.epa.gov/ncer/publications/meetings/8-18-04/pdf/ferguson.pdf>
- [9] Fortner D. et al. (2005) C60 in water: nanocrystal formation and microbial response. *Environ. Sci. Technol.*, 39, 4307-4316.
- [10] Yang L. & Watts D.J. (2005). Particle surface characteristics may play an important role in phytotoxicity of alumina nanoparticles. *Toxicology letters*. 158, 2, 122-132.
- [11] Templeton et al. (2005). Lifecycle effects of bulk and purified carbon nanotubes on an estuarine meiobenthic copepod. <http://www.abstracts.co.allenpress.com/pweb/setac2005>
- [12] <http://www.nanotox.info>
- [13] Oberdörster E. (2004). Manufactured nanomaterials (fullerenes, C60) induce oxidative stress in the brain of juvenile largemouth bass. *Environmental Health perspectives*. 112, 10: 1058-1062.
- [14] U.E. Technical Guidance Document. TGD2 – Part II – Chap3 Indication of bioaccumulation potential.
- [15] Rose J. et al. (2005). Propriétés de surface des nanoparticules manufacturées (oxydes et carbonées): mécanismes de biodégradation, bio-accumulation et des effets mutagènes. 6p.
- [16] Stone V., Fernandes T., Ford A. and Christofi N. (2005). Suggested strategies for the ecotoxicology testing of nanoparticles. Safety of Nanomaterials Interdisciplinary Research Centre – Napier University Edinburgh.

## **CHAPITRE 3 :**

---

## **QUE FAIRE ?**

## SECTION 1 : ASPECTS RÉGLEMENTAIRES ET INSTITUTIONNELS

En l'état actuel du droit, il n'existe pas de textes applicables aux nanoparticules manufacturées en tant que telles. Toute une série de réglementations existantes leur paraît certes potentiellement applicable (*Point 1*) mais aucune ne les vise spécifiquement, ce qui en rend la mise en œuvre très aléatoire (*Point 2*) et exige une clarification des textes existants et l'adoption rapide de nouvelles mesures (*Point 3*).

### 1. Réglementations existantes potentiellement applicables aux nanoparticules

Pour déterminer la manière dont les nuisances liées aux nanoparticules peuvent être prévenues ou maîtrisées, il convient de recenser l'ensemble des textes juridiques qui pourraient leur être applicables, que les nanoparticules soient considérées en tant que telles - comme agents chimiques ou physiques (cf. fibres), comme produits finis -, qu'elles soient considérées sous l'angle de l'usage qui en est fait - usage industriel (travailleurs exposés, population générale également exposée via des effluents), usage dans le domaine public ou domestique des produits (consommateurs exposés, mais aussi la population générale) – ou qu'elles soient considérées sous l'angle du contrôle de la qualité des milieux - ambiances professionnelles, qualité de l'air etc.

Tout un ensemble de réglementations en vigueur, d'origine communautaire pour la plupart, est alors bel et bien susceptible de s'appliquer aux nanoparticules. Tel est notamment le cas de deux catégories de règles : d'une part, celles qui portent sur un agent physique ou une substance chimique, dont le droit s'attache à encadrer la production, l'usage et l'élimination ; d'autre part, celles qui visent à limiter l'exposition de l'homme ou de l'écosystème à diverses nuisances.

#### *\* Réglementations relatives à l'évaluation des dangers et risques des substances*

La première catégorie rassemble des réglementations relatives à l'évaluation des dangers et risques des substances. Certaines d'entre elles visent les substances ou agents en tant que tels, de façon assez générique, pour en limiter ou encadrer les conditions d'usage. D'autres, plus nombreuses, et spécifiques, concernent les produits (ou «préparations») incorporant ces substances, et organisent les conditions de leur mise sur le marché.

- **En tant que substances chimiques**, les nanoparticules peuvent d'abord relever de la réglementation relative aux agents chimiques : il s'agit de la réglementation sur les substances dites «existantes» et les substances dites «nouvelles», qui sera bientôt remplacée par le projet de règlement «REACH» (*Registration, Evaluation, and Authorisation of Chemicals*) concernant l'enregistrement, l'évaluation et l'autorisation des substances chimiques.

Ces dispositifs peuvent requérir l'identification des dangers et l'évaluation des risques. A ce titre, les façons concrètes d'utiliser ou de conditionner les substances, l'état dans lequel elles se trouvent – et donc, si c'est le cas, leur forme nanométrique - à diverses étapes du processus de production et d'utilisation sont à prendre en compte. Ainsi, dans la réglementation existante comme dans le projet REACH, si une substance est soumise à évaluation, son usage sous forme nanométrique sera théoriquement pris en compte.

- Plus en aval, lorsque les substances sont intégrées dans un **produit manufacturé**, elles sont susceptibles de relever de diverses réglementations relatives à la mise sur marché des produits les contenant. On peut ainsi citer les directives sur les biocides, les pesticides, les médicaments à usage humain et vétérinaire, les produits cosmétiques etc. C'est alors *via* le produit tel qu'utilisé par un professionnel ou par un consommateur que la nanoparticule manufacturée pourrait être évaluée.

### **\* Textes sur la maîtrise des risques associés aux pratiques de terrain, industrielles ou autres**

Un second groupe de textes porte sur la maîtrise des risques associés aux pratiques de terrain, industrielles ou autres. Les particules anthropogènes (manufacturées ou produites de façon non intentionnelles) se retrouvant parmi les polluants de l'environnement et des atmosphères intérieures, trois ensembles de textes leur sont théoriquement applicables. Les uns organisent *la maîtrise des émissions* dans l'environnement à partir d'installations industrielles ou autres (hôpitaux, infrastructures) via des «normes» de concentration dans les rejets ; les autres portent sur la *qualité des milieux* (surveillance et «normes» pour la qualité de l'air, de l'eau...) ; enfin, certains textes portent sur *les concentrations admissibles dans les atmosphères en milieu de travail*. Ces textes ne visent pas à évaluer les risques (encore que la réglementation du travail impose par ailleurs une évaluation aux postes de travail), mais tous ont pour objectif de surveiller, de contrôler, de réduire, voire de supprimer l'exposition à des polluants.

Contrairement aux précédents, ces textes font de la taille un des critères de soumission à la réglementation.

## **2. Incertitudes quant à la mise en œuvre des réglementations existantes**

Si de nombreux textes paraissent ainsi potentiellement applicables aux nanoparticules, aucun n'est spécifique à ces dernières, de sorte que leur application aux objets qui nous intéressent ici est des plus aléatoires.

### **\* Il en va ainsi de l'évaluation des nanoparticules manufacturées.**

S'il peut arriver que les nanoparticules manufacturées fassent l'objet d'une évaluation, le système n'en est pas moins insatisfaisant.

Dans son état actuel et à venir – autant qu'en laissent préjuger les débats relatifs à REACH - , la réglementation des substances chimiques est ainsi articulée autour d'un ensemble de critères – «nouvelle substance», «nouvel usage», «tonnage» minimum de production, etc. – qui ne permettent pas de garantir son application aux nanoparticules.

D'une part, la substance chimique doit être expressément visée par la réglementation. Si tel n'est pas le cas, elle ne sera pas évaluée. C'est ainsi que si l'on estime le carbone comme non toxique, les nanoparticules de carbone échappent à une obligation d'évaluation, car le fait qu'une particule ait une taille inférieure à 100 nanomètres ne constitue pas en soi un critère justifiant l'application des règles de droit existantes.

D'autre part, même quand la nanoparticule est constituée d'une substance expressément visée par la réglementation, son évaluation n'en est pas pour autant systématique. Par exemple, une nanoparticule destinée à une formulation cosmétique n'aura probablement pas à être évaluée si la substance chimique dont elle est constituée l'a déjà été pour un même usage cosmétique.

Enfin, les productions de substances à échelle nanométrique sont généralement peu élevées, n'atteignant pas le tonnage de production (1000 tonnes/an) à partir duquel l'évaluation est requise.

### **\* Un tel constat vaut aussi plus en aval, s'agissant des réglementations applicables à la mise sur le marché de produits.**

En effet, lorsque des nanoparticules sont intégrées à un produit manufacturé, les risques qui leur sont attachés ne font pas davantage l'objet d'une évaluation spécifique. Par exemple, s'agissant des produits cosmétiques, la directive 76/768/CEE pose comme principe général que seuls les produits cosmétiques qui ne sont pas susceptibles de nuire à la santé humaine peuvent être mis sur le marché. Mais cette appréciation se fait «indépendamment du procédé de fabrication utilisé et de la taille d'une substance donnée contenue dans les produits cosmétiques, les exigences de sécurité susmentionnées doivent être satisfaites avant que cette substance ne puisse être utilisée dans des produits cosmétiques».

En somme, si certaines interprétations des textes en vigueur pourraient parfois permettre de prendre en compte la spécificité des nanoparticules, aucune réglementation ne vise spécifiquement ces dernières. Des divers débats réglementaires en cours, il ne ressort par ailleurs aucune réelle perspective d'évolution.

### **3. Perspectives envisageables**

***L'absence de référence explicite aux nano-particules dans l'ensemble des réglementations actuelles est une situation à laquelle il est nécessaire de remédier de façon rapide et efficace.*** Il n'est pas recevable que des produits dont le potentiel de danger est nouveau soient mis sur le marché sans que leurs risques aient été préalablement évalués, comme on s'oblige à le faire pour une molécule nouvelle. A cet égard, on ne peut se satisfaire des codes de conduite purement volontaires, certes bien intentionnés, dont se sont dotées certaines grandes entreprises et qui prévoient une telle évaluation.

***En elle-même, la taille d'une particule doit donc constituer un critère justifiant la mise en œuvre de règles*** relatives à l'évaluation des substances et produits pour les unes, à la protection des travailleurs et de l'environnement pour les autres. Cette démarche, guidée par le principe de précaution, pourra être révisée en tant que de besoin. Elle n'en est pas moins nécessaire à ce jour.

Un choix restera à opérer, qui consistera ou bien à établir un cadre réglementaire nouveau et propre aux nanoparticules (on peut imaginer une logique propre comme pour les champs électromagnétiques) ou bien à adapter les réglementations existantes et à venir aux spécificités des nanoparticules. Cette seconde option est non seulement possible mais simple à mettre en œuvre. Ainsi, le projet REACH contenant déjà des dispositions concernant plusieurs familles de substances dites «très préoccupantes» (CMR : Cancérigènes, Mutagènes ou Reprotoxiques ; PBT : Persistantes, Bioaccumulables et Toxiques ; vPvB : très Persistantes et très Bioaccumulables ; perturbateurs endocriniens ; sensibilisants) ; il suffirait d'étendre ces familles de substances à celles qui sont manipulées sous forme nanométrique. De la même manière, dans le domaine de la qualité de l'air, les caractéristiques physiques d'une substance constituent déjà un critère de soumission à la réglementation. Techniquement, il serait donc simple d'y mentionner clairement les substances nanométriques.

Quelle que soit la solution adoptée, l'objectif à atteindre est double : d'une part, traiter juridiquement les nano-substances comme de nouveaux produits ou de nouvelles substances, comme le recommandent du reste nombre d'avis et rapports sur le sujet, d'autre part et en conséquence, établir clairement un principe d'évaluation systématique des nanoparticules.

***Tout programme de soutien au développement des nanoparticules doit être accompagné d'un programme destiné à en évaluer la sécurité.*** C'est ainsi qu'aux Etats-Unis, tout programme fédéral de développement des nanotechnologies s'accompagne du financement d'études de ce type, de sorte qu'en même temps que l'on stimule le développement de la technique, on s'oblige à en savoir davantage des risques qu'elle engendre. La France doit reprendre à son compte ce principe du reste nécessaire au regard du principe de précaution et s'attacher à le porter au niveau communautaire.

***Il convient par ailleurs que des dispositions nationales et communautaires organisent la circulation et la divulgation des informations relatives aux risques en jeu.*** L'objectif est double : accélérer le développement des connaissances et en faciliter l'accès aux communautés scientifiques et industrielles ;garantir la transparence des résultats.

***Enfin et plus généralement, il faut s'atteler à mettre en œuvre les recommandations récemment formulées par la Commission européenne*** (Communication de la Commission - Vers une stratégie européenne en faveur des nanotechnologies, COM(2004)338 final) : les nanotechnologies doivent être développées de manière sûre et responsable ; les principes éthiques applicables doivent être observés et les risques potentiels pour la santé, la sécurité ou l'environnement doivent être étudiés scientifiquement dans la perspective d'une éventuelle réglementation ; les incidences sur la société doivent être analysées et prises en compte ; il faut intégrer une réflexion concernant les incidences sur la société à un stade précoce du processus de Recherche et Développement ; il convient d'aborder de manière franche les risques potentiels pour la santé publique, la sécurité, l'environnement ou les consommateurs en générant les données nécessaires à l'évaluation de ces risques, en intégrant l'évaluation des risques à toutes les étapes du cycle de vie des produits issus des nanotechnologies et en adaptant les méthodologies existantes ou, si nécessaire, en élaborant des méthodologies nouvelles.

## SECTION 2 : LA GESTION DES RISQUES

L'application du principe de précaution conduit à recommander une politique de gestion des risques basée sur la taille des objets, sans préjudice des spécificités qui pourraient être mises en évidence pour telle ou telle espèce. Le risque doit être envisagé *a priori*, et l'innocuité démontrée au cas par cas, et non l'inverse.

### 1. Champ d'application

Les mesures proposées ici devraient s'appliquer à la manipulation en milieu de travail de toutes les nanoparticules (diamètre < 100 nm), intentionnellement fabriquées, aux postes de travail où elles sont susceptibles :

- soit d'être mises en circulation sous forme d'aérosol ou d'hydrosol (postes de production des nanoparticules, manipulation ou présence de formes pulvérulentes, ou érosion de formes solides) ;
- soit d'être à l'origine d'une absorption cutanée ou d'une ingestion.

### 2. Traçabilité et mesurage

#### 2.1 Traçabilité

La première exigence est que toute substance susceptible de disperser des nanoparticules puisse être identifiée, à toutes les étapes de la fabrication, de la mise en œuvre industrielle, de l'usage ou de la consommation, et du recyclage.

Un étiquetage spécifique serait nécessaire. Il pourrait être basé sur celui qui est utilisé pour l'amiante.

Les consommateurs doivent être informés de la présence, dans les produits qu'ils achètent, de nanoparticules susceptibles d'être remises en circulation.

#### 2.2 Mesurage

La mesure traditionnelle de la concentration de particules dans l'air est exprimée en masse par unité de volume (par exemple mg/m<sup>3</sup>). Dans le cas des nanoparticules, les masses en jeu sont en général très faibles. La métrologie des nanoparticules devra se baser sur les principes développés dans le *Chapitre 1*.

### 3. Maîtrise et contrôle de l'exposition professionnelle

#### 3.1 Situation actuelle

Certaines des grandes entreprises qui produisent ou utilisent les nanoparticules ont déjà mis en œuvre des mesures spécifiques pour les travailleurs qu'elles emploient. Les dispositifs suivants sont utilisés :

- robotisation importante de la production ;
- lavage et filtration de l'air ;
- possibilité de noyer les installations en cas de problème ;
- réacteurs clos ;
- usage de boîtes à gants ;

- protections individuelles (par exemple demi-masques filtrants jetables FFP2 ou FFP3<sup>1</sup>) ;
- conditionnement et livraison des nanoparticules sous forme de dispersion liquide ou au sein de liants.

Un niveau équivalent de protection n'existe pas dans toutes les entreprises productrices et utilisatrices, ni dans les laboratoires publics de recherche.

### 3.2 Principe général

Par application du principe de précaution, le CPP recommande d'introduire aux postes de travail où sont manipulées les nanoparticules définies ci-dessus un ensemble de dispositions protégeant les travailleurs, sans attendre la mise en évidence de la toxicité ou de l'innocuité espèce par espèce. Pourraient être exemptées de ces mesures, sous réserve d'un système de vigilance adapté, les seules nanoparticules pour lesquelles des tests toxicologiques n'auraient pas montré de toxicité par les méthodes actuellement utilisées.

Les dispositions recommandées portent sur :

- l'obligation de contention dans des systèmes clos chaque fois que cela est possible ;
- la limitation et l'évaluation des expositions ;
- l'exclusion, des postes de travail concernés, des femmes enceintes ou allaitant ;
- la mise à disposition de moyens collectifs et individuels de protection ;
- la collecte, l'évacuation et le traitement sûrs des déchets ;
- l'information des travailleurs, de leurs représentants, et des organismes de contrôle ;
- une surveillance médicale spéciale.

### 3.3 Points particuliers d'attention

Les postes où le risque d'exposition à des aérosols est le plus élevé sont les situations de fabrication des nanoparticules (quand le système n'est pas clos), les postes de conditionnement, de dépotage, de pesage, de chargement des formes pulvérulentes.

Pour autant, les situations normales de production ne sont pas les seules susceptibles de conduire à une exposition. Il est indispensable d'identifier et de traiter les situations liées :

- aux interventions de réglage et de maintenance ;
- au prélèvement d'échantillons pour contrôle ;
- aux incidents de fabrication ;
- au nettoyage des installations et locaux ;
- à l'évacuation et l'élimination des produits, des contenants, des filtres, des parties d'installation ou matériels contaminés ;
- au déshabillage et au nettoyage des vêtements de travail.

Ces situations peuvent être internes à l'entreprise utilisatrice, mais peuvent aussi concerner des sous-traitants, pour lesquels les mêmes dispositions doivent être prises.

Les mesures concernant la séparation des zones propres et sales, et la définition des moyens individuels de protection sont précisées dans l'*Annexe IV*.

---

1. Pour la définition des différents appareils de protection respiratoire, voir Huré, Ph., Guimon, M. (référence [1])

## **4. Traitement des déchets et effluents**

### **4.1 Situation actuelle**

Les déchets solides (emballages, filtres), sont actuellement manipulés sans précaution particulière, et traités dans les filières classiques, notamment par incinération. La dispersion possible de nanoparticules pendant la manipulation n’a fait l’objet d’aucune évaluation. Toutefois, la forte tendance à la réagglomération des nanoparticules à haute température fait qu’il est peu probable qu’il puisse en exister dans les rejets gazeux des incinérateurs.

Les eaux de process et de nettoyage sont actuellement envoyées aux stations de traitement (STEP) par les voies classiques. Il n’existe à notre connaissance aucune étude sur le devenir des nanoparticules dans les boues et dans l’eau rejetées dans l’environnement.

### **4.2 Recommandations**

L’air des ateliers utilisant des nanoparticules devrait être filtré avant rejet à l’atmosphère.

Les déchets solides (filtres, conditionnements,...) devraient être conditionnés dans des emballages fermés pour leur manipulation jusqu’à l’incinération ou le retraitement.

Les effluents liquides devraient faire l’objet d’études permettant d’évaluer le devenir des nanoparticules dans les boues des stations d’épuration et les matières en suspension des rejets dans les rivières.

## **5. Danger d’incendie et d’explosion<sup>2</sup>**

La majorité des poussières peuvent brûler et donner lieu à des “explosions de poussière”, qui comportent un fort potentiel de destruction, comme le montre parfois l’explosion de silos de céréales. On peut s’attendre à ce que les nuages de nanoparticules soient également explosifs au-delà d’une certaine concentration, qui n’est actuellement pas déterminée. On dispose de très peu de connaissances sur le risque spécifique d’explosion de nuages de nanoparticules par rapport à celui associé à des nuages de particules de plus grande dimension. La présence de particules très fines est susceptible de contribuer à une modification des propriétés optiques du milieu, et d’accentuer fortement les effets du rayonnement. Si tel était le cas, la vitesse de la flamme pourrait être plus élevée et moins prévisible que dans des nuages de particules de plus grande dimension. La propension à l’agglomération des nanoparticules est cependant susceptible de contrecarrer cette tendance.

Par ailleurs, la diminution de la dimension des particules abaisse le niveau d’énergie nécessaire pour une inflammation du nuage par étincelle. Or, l’apparition d’électricité statique dans les procédés de fabrication des nanoparticules est quasi systématique. Des moyens de lutte spécifiques contre le risque d’amorçage par étincelles électrostatiques pourraient être rendus nécessaires.

Le comportement d’un nuage de nanoparticules qui serait répandu dans l’environnement à la suite d’une explosion est actuellement inconnu.

Des recherches sur le comportement des nuages de nanoparticules, l’initiation de la combustion et la propagation de la flamme devraient être conduites de façon urgente, pour définir des stratégies de prévention des risques d’incendie et d’explosion, sans attendre la multiplication des lieux de production, de stockage, de manipulation, de transport et d’utilisation des nanoparticules. Tant que leurs résultats ne sont pas connus, il importe d’éviter un empoussièrément élevé de l’air par des nanoparticules, même dans des zones ne comportant aucune présence humaine.

---

2. Les membres du CPP remercient Mme Mandin, MM. Bouillard et Le Bihan (INERIS) pour leur apport d’information pour la rédaction de ce paragraphe.

## **6. Développement des études, des recherches, et diffusion de l'information**

Des travaux fondamentaux sont nécessaires pour savoir s'il est possible d'extrapoler aux nanoparticules certaines des valeurs limites d'exposition existant pour des particules de même composition mais de taille micrométrique. En attendant des résultats toxicologiques précis, la cible d'exposition doit être fixée suivant le principe ALARA (*as low as reasonably achievable*) : aussi bas qu'il est raisonnablement réalisable.

De nombreuses techniques sont mises au point pour mesurer la concentration de nanoparticules dans l'air [2]. Il importe de développer aussi les études de dispositifs permettant la quantification simple et rapide de nanoparticules dans l'atmosphère de travail, même si elle est moins précise. Dans l'état actuel des connaissances toxicologiques, l'intérêt n'est pas seulement la mesure absolue de la concentration dans les situations de travail, (qu'il sera en général impossible de comparer à une VLE ou une VME)<sup>3</sup>, mais aussi de pouvoir identifier immédiatement une montée de la concentration, lors de certaines tâches ou d'un incident, afin d'améliorer la prévention.

La capacité de filtration des nanoparticules par les équipements classiques doit être confirmée par des études portant sur des situations réalistes d'usage.

Des études hygiénistes et ergonomiques dans une diversité de situations de production et d'usage des nanoparticules doivent être effectuées.

Une information spécifique, à destination des Comités d'Hygiène Sécurité Conditions de Travail des établissements concernés, devrait être élaborée.

### **RÉFÉRENCES :**

[1] Huré, Ph., Guimon, M., Les appareils de protection respiratoire, choix et utilisation, INRS, ED 780, 2002.

[2] Witschger, O., Fabriès, J.F., Particules ultrafines et santé au travail, 2. Sources et caractérisation de l'exposition, ND 2228-199-05, INRS, 2005.

---

3. La réglementation relative aux risques toxiques est basée en France sur deux types de valeurs :

- *valeurs limites d'exposition à court terme (VLE)* : ce sont des valeurs plafonds mesurées sur une durée maximale de 15 minutes. Leur respect prévient les risques d'effets toxiques immédiats ou à court terme.

- *valeurs limites de moyenne d'exposition (VME)* : mesurées ou estimées sur la durée d'un poste de travail de 8 heures, elles sont destinées à protéger les travailleurs des effets à long terme. La VME peut être dépassée sur de courtes périodes, à condition de ne pas dépasser la VLE, lorsqu'elle existe. (Source : INRS)

## SECTION 3 : ASPECTS SOCIÉTAUX

Pour la rédaction de cette section, le CPP s'est largement appuyé sur les travaux autour de la «*Démocratie locale et maîtrise sociale des nanotechnologies*» coordonnés par Pierre-Benoît Joly en 2005 pour la Communauté des Communes de l'Agglomération Grenobloise [1].

Le discours des promoteurs des nanotechnologies s'articule autour de la promesse d'un monde meilleur<sup>4</sup>. Du côté des promoteurs européens, l'attention est aussi attirée sur le risque pour l'Europe de ne pas se hisser au rang des économies fondées sur la connaissance de cette technologie. Les nanotechnologies ont en effet un tel pouvoir d'ouverture de champs scientifiques nouveaux, qu'un éventuel retard entraînerait des risques considérables de dépendance, d'atteinte aux intérêts vitaux et à la souveraineté nationale, dans un contexte de guerre économique exacerbée. La compétition internationale et la logique de l'urgence qui lui est liée peuvent donner le sentiment qu'il n'y a pas de possibilité de choix et que la seule alternative est d'être ou non dans la course.

Pourtant, bien au delà de ce discours, il faudrait un engagement en faveur de la démocratisation des choix scientifiques et techniques, construire des espaces de mise en débat nourrissant les processus décisionnels et pour cela, prendre le temps et les moyens d'impliquer la société civile, les chercheurs et les acteurs économiques et politiques.

Le CPP n'abordera pas ici la question de la convergence des nanotechnologies avec les biotechnologies, les technologies de l'information et celles issues des sciences cognitives (Nano-Bio-Info-Cognisciences NBIC [2]). Mais il souligne cependant que cet aspect soulève des questions éthiques et sociales à la fois inédites - transformation des facultés humaines - et fondamentales.

### 1. Un retard du débat français sur les nanotechnologies

Face aux enjeux ouverts par les nanotechnologies, l'opportunité existe peut-être d'instruire les débats nécessaires en amont, ou presque, de leur mise en œuvre. Au Royaume Uni ou aux Etats Unis, des controverses se sont développées dans l'espace public à propos des nanotechnologies. Pourtant, selon le rapport de Pierre-Benoît Joly [1], il manque encore un espace de débat national en France pour de nombreuses préoccupations concernant les nanotechnologies : quels risques sanitaires et environnementaux ? Quels enjeux éthiques, économiques et sociaux ? Quel impact des projets sur le développement local ? En comparaison avec ces pays, le retard pris en France en matière de mise en débats des nanotechnologies est lié à un discours dominant considérant les choix en matière de politique de la recherche et d'innovation du strict ressort des experts<sup>5</sup>.

### 2. Risques sanitaires et environnementaux

Ceux-ci ont été largement abordés au *Chapitre 2*. Les incertitudes sur le comportement à terme des nanoparticules dans l'environnement, leur écotoxicité et leur toxicité chez l'homme sont très grandes. Elles appellent d'importants programmes de recherche et la mise en œuvre de nouvelles réglementations aux niveaux national, européen et international, qu'il s'agisse de l'exposition en milieu de travail, de la dissémination dans l'environnement et des usages thérapeutiques.

---

4. Le rapport américain de la National Science Foundation [1] qui a lancé le programme « Converging Technologies for Improving Human Performances » (2002) promet, à terme, l'unification des sciences et techniques, le bien-être matériel et spirituel universel, la paix mondiale, l'interaction pacifique et mutuellement avantageuse entre les humains et les machines intelligentes, la disparition complète des obstacles à la communication généralisée, en particulier ceux qui résultent de la diversité des langues... (Cité par Dupuy et Roure 2004 [3]).

5. En France, citons tout de même l'initiative lancée par l'association Vivagora (<http://www.vivagora.org>) qui organise, depuis le début de l'année 2006, un cycle de débats mensuels sur : « Nanomonde : quels choix technologiques pour quelle société ? ». Les résultats de ces débats seront présentés lors d'un colloque de synthèse à l'automne 2006.

Selon Jean-Pierre Dupuy et Françoise Roure [3], il convient d'ailleurs, d'aller bien au delà de l'analyse de risques «classique» (approche causale simple) et d'opter pour une approche systémique des risques induits par les nanoparticules et produits nanostructurés, suivant un corpus méthodologique bien balisé dans les études d'écotoxicologie. Cette approche ne doit pas se limiter aux risques *stricto sensu* mais prendre en compte les solutions que les nanotechnologies sont susceptibles d'apporter aux grands défis du développement durable (réduction de l'écopollution, filtres fonctionnalisés...). Ceci soulève d'ailleurs la question de l'évaluation de l'utilité sociale des nanotechnologies, dont les modalités sont à définir.

Bien que le retour d'expérience de la gestion de certains dossiers, celui de l'amiante par exemple, ait conduit des organisations professionnelles, des entreprises et des associations de consommateurs à une attitude de vigilance, l'écart entre la pression de la compétitivité industrielle sur un marché globalisé et le temps nécessaire à la réalisation des études sur les effets sanitaires et environnementaux, constitue une importante source de risque.

La diffusion des connaissances sur ces questions et la mise en œuvre d'une dynamique transparente impliquant, dans le débat sur les questions posées et les recherches devant être conduites, les divers secteurs scientifiques, les industriels et la société civile, est un enjeu majeur et urgent. Les outils pour cela n'existent pas encore en France ni à l'échelle nationale, ni à l'échelle locale.

### **3. Nanotechnologies et développement local : le cas grenoblois**

La Communauté des Communes de l'Agglomération Grenobloise (la Métro) s'est engagée, depuis le début des années 1990, dans le développement des nanotechnologies à Grenoble ce qui positionnera cette ville comme l'un des principaux pôles d'innovation en nanotechnologies en France. L'idée développée est de réorganiser les espaces de production autour de «plate-formes» qui assurent l'interface entre recherche et industrie, hybridant ainsi des logiques publiques et privées. Ceci place le CEA/Leti au cœur du système car, dans l'espace grenoblois, c'est lui qui dispose des compétences de gestion des grands instruments. Ceci permet également de mobiliser les grandes entreprises grenobloises de l'électronique, certaines entreprises des biotechnologies, certains grands utilisateurs (civils ou militaires) de la nanoélectronique et un ensemble de PME «high-tech».

Le rapport de la mission pour la Métro [1] attire l'attention sur le fait qu'un tel choix pourrait avoir des effets structurels sur la recherche grenobloise, avec notamment une marginalisation relative de pans entiers de la recherche. Ce rapport pose plusieurs questions sur les implications de ces formes d'organisation sur la liberté de la recherche, le caractère public des résultats et le rapport avec les différents publics. Avec les nanotechnologies se jouerait ainsi une logique de spécialisation mais aussi une transformation d'ampleur du système d'enseignement et de recherche grenoblois, laquelle concerne, par ses effets directs et indirects sur l'enseignement supérieur, l'ensemble de la population grenobloise.

Le rapport de la mission pour la Métro [1] souligne par ailleurs le fait que cette dynamique, marquée par la consolidation d'un réseau d'élites autour d'une vision commune du développement local par l'innovation se focalisant sur la compétition internationale, n'est guère favorable à la mise en débat et à la participation du public.

### **4. Vers une meilleure gouvernance des nanotechnologies : la participation du public aux choix et à l'évaluation des technologies**

Dans l'Union européenne, l'enjeu éthique n'est pas suffisamment perçu. La question éthique des limites aux possibilités ouvertes par les nanotechnologies n'étant, à l'heure actuelle, pas ou mal posée, la conséquence immédiate en est le risque de décalage fort et, à court terme, des perceptions des opinions publiques dans l'Union européenne et dans le reste du monde, avec des effets très incertains sur la poursuite de l'appui public aux développements scientifiques et technologiques en ce domaine. L'expérience historique montre que lorsque la divergence est trop forte entre technique et éthique, les tensions sociales qui en résultent créent des dommages et souffrances parfois irréversibles.

Il convient par ailleurs de souligner que les nanotechnologies pourraient grandement faciliter les processus de séparation isotopique de radio-éléments : la fabrication d'armes nucléaires pourrait s'en trouver simplifiée.

Compte tenu de l'importance de ces enjeux économiques, sociaux et éthiques, les nanotechnologies constituent aujourd'hui un problème public. Mais les outils traditionnels de la démocratie participative locale ne sont pas adaptés pour traiter ces questions scientifiques et techniques. Par démocratie participative, on peut entendre un ensemble de dispositifs qui permettent à des citoyens « ordinaires » (non représentants) d'être partie prenante du processus d'élaboration des décisions (qu'arrêteront les représentants).

Le principe de la participation correspond aujourd'hui à une exigence démocratique et il est inscrit dans plusieurs textes législatifs. De nombreuses expériences sont en cours dans les domaines de la gestion urbaine, des grands travaux d'aménagement, de l'environnement... Dans le domaine des choix scientifiques et techniques, la situation est moins claire et le principe de la participation du public n'est pas acquis. Pourtant, l'expérience internationale depuis une trentaine d'années dans différents pays en montre l'importance et les intérêts.

Ces expériences démontrent en effet que des citoyens « ordinaires » ont la capacité de s'approprier des sujets complexes ; il peut d'ailleurs se constituer des forces de contre-expertise citoyenne. La participation du public permet, en élargissant les cadres d'analyse, d'intégrer des visions variées dans les processus de décision ainsi qu'un ensemble d'enjeux qui n'étaient pas pris en compte. Elle conduit enfin à discuter la fiabilité des connaissances sur lesquelles s'appuient les engagements collectifs.

## RÉFÉRENCES :

- [1] Joly P.B., « Démocratie locale et maîtrise sociale des nanotechnologies : Les publics grenoblois peuvent-ils participer aux choix scientifiques et techniques ? », Rapport final de la mission pour la Métro (Communauté des Communes de l'Agglomération Grenobloise), Octobre 2005.
- [2] Mihail C., Roco et William Sims Bainbridge (sous la dir. De), *Converging Technologies for Improving Human Performance : Nanotechnology, Information, Technology en Cognitive Science*, National Science Foundation, Arlington (Virginie), juin 2002.
- [3] Dupuy J.P., Roure F., « Les nanotechnologies : éthique et prospective industrielle ». Paris, La Documentation Française, Novembre 2004. <http://www.cgm.org/themes/deveco/develop/nanofinal.doc>

## POUR EN SAVOIR PLUS :

- Académie française des sciences et des technologies. Nanosciences – Nanotechnologies. Paris, Editions Tec. & Doc. Lavoisier, avril 2004.
- André J.C., Réflexions autour de la « nano-éthique » et de la « nano-normalisation », *Environnement Risques et Santé*, Vol. 4, 6, 411-415, 2005.
- Arnall A., Parr, Douglass, Moving the nanoscience and nanotechnology (NST) debate forwards: short-term impacts, long term uncertainty and the social construction. *Technology in Society*, 27, 2005, 23-39.
- Banthien H., Jaspers M., Renner A., Governance of the European Research Area: The role of civic society. Berlin, IFOK Report, 2003.
- Bensaude-Vincent Bernadette, Se libérer de la matière ? Fantômes autour des nouvelles technologies, INRA, Coll. « Sciences en questions », Paris, 2004.
- Bourg D. Boy D., Conférences de citoyens, mode d'emploi. Paris, Editions Charles Léopold Mayer, 2005.
- Callon M., Des différentes formes de démocratie technique. *Annales des Mines – Responsabilité & Environnement*, 9, 63-72, 1998.
- Callon M., Lascoumes P, Barthe Y., Agir dans un monde incertain, Essais sur la démocratie technique. Paris, Seuil, 2001.
- Chateauraynaud F., Nanosciences et technoprophéties. Le nanomonde dans la maîtrise des futurs, GSPRH-EHESS, Paris, avril 2005.
- Dupuy J.P., "Complexity and Uncertainty A Prudential Approach To Nanotechnology" in *Nanotechnologies: Preliminary Risk Analysis on the Basis of a Workshop organized in Brussels on 1-2 March 2004 by the Health and Consumer Protection Directorate General of the European Commission* - [http://europa.eu.int/comm/health/ph\\_risk/documents/ev\\_20040301\\_en.pdf](http://europa.eu.int/comm/health/ph_risk/documents/ev_20040301_en.pdf)
- Lesourne J., Bravo A., Randet, D., Avenirs de la recherche et de l'innovation en France. Paris, La documentation Française, 2004.
- Royal Society and Royal Academy of Engineering, London, Nanoscience and nanotechnologies : opportunities and uncertainties. London, Royal Academy of Engineering, 29 juillet 2004.

# ANNEXES

# ANNEXE I : PROPRIÉTÉS PHYSIQUES ET PHYSICO-CHIMIQUES DES NANOPARTICULES

*La présente annexe précise les points exposés dans la Section 1 du Chapitre 1*

## Annexe I-1 : Quelques définitions

Dans le domaine des particules il est nécessaire de rappeler quelques définitions car les termes sont souvent mal utilisés, ce qui peut entraîner des confusions surtout en raison des nombreuses disciplines qui interviennent [1].

Une particule est un état finement divisé de la matière. Un hydrosol est une suspension de particules dans un liquide. Un aérosol (ou aérocolloïde), introduit par analogie avec le terme d'hydrosol, est une suspension de particules solides ou liquides dans un gaz. Le mot aérosol est souvent improprement utilisé à la place de particules. Le mot poussière (dust) est réservé à des particules produites par un phénomène d'érosion. Une fumée correspond à un aérosol provenant d'une combustion ou d'une réaction chimique (fumée de chlorure d'ammonium par exemple). Les nanoparticules sont le plus souvent considérées comme des particules dont le diamètre est inférieur à 100 nm ou 0,1  $\mu\text{m}$  (si elles sont assimilées à une géométrie sphérique). Elles correspondent au point de vue dimensionnel aux particules ultrafines (PUF), terminologie utilisée en matière de pollution atmosphérique. On trouve aussi dans la littérature anglo-saxonne l'appellation HDAs (High-Disperse Aerosols) [2]. Dans l'atmosphère les particules inférieures à 0,1  $\mu\text{m}$  sont aussi appelées noyaux d'Aitken.

Un agrégat est un assemblage de particules retenues entre elles par des forces inter ou intramoléculaires (ou atomique). Un agrégat est stable vis-à-vis de techniques de dispersion comme par exemple les ultrasons. Un agglomérat est composé de particules liées entre elles par des forces de cohésion faibles, par exemple des forces électrostatiques.

La dimension d'une particule correspond si elle est sphérique à son diamètre, mais le rayon est aussi parfois utilisé. Si la particule n'est pas sphérique d'autres définitions existent [3] mais elles sont rarement utilisées. Lorsque la particule ne peut être observée au microscope optique ou électronique, la dimension est déduite de la mesure d'une de ses propriétés physiques. Comme la propriété physique peut dépendre d'autres paramètres, sa densité par exemple, on est amené à définir des dimensions particulières comme le diamètre aérodynamique  $D_a$ , qui correspond à la dimension d'une particule sphérique de densité égale à 1, ayant un comportement aérodynamique identique, par exemple la vitesse de sédimentation, à celui de la particule considérée.  $D_a = D \sqrt{\rho}$ ,  $D$  est le diamètre réel et  $\rho$  la densité de la particule, (qui n'est pas en général connue, d'où la nécessité de cette notion de diamètre aérodynamique). Pour les particules ultrafines (ou nanoparticules) on utilise aussi le diamètre thermodynamique, lorsque la dimension est déduite de la mesure du coefficient de diffusion brownien.

La concentration des particules dans un aérosol peut être caractérisée par le nombre, la surface ou la masse des particules par unité de volume du gaz. La fonction de distribution ou spectre granulométrique est, en fonction de la dimension (le diamètre par exemple), la fraction de masse ou de surface ou de nombre dans un petit intervalle de dimension [4]. La dimension se trouve le plus souvent répartie sur plusieurs ordres de grandeur et il faut utiliser des représentations logarithmiques. Les spectres granulométriques sont bien sur très différents suivant que l'on considère le nombre, la surface ou la masse.

L'étendue du spectre granulométrique dans lequel on classe les nanoparticules correspond à deux ordres de grandeur soit un facteur 100 entre les dimensions des deux extrémités du spectre. Les caractéristiques des particules peuvent varier dans de larges proportions dans cet intervalle de

dimension. Ainsi le coefficient de diffusion, qui caractérise la diffusion, augmente avec l'inverse du carré de la dimension, soit un facteur 10 000 entre 1 et 100 nm. La diffusion de la lumière (diffusion Rayleigh) qui est utilisée pour les mesures granulométriques, diminue très rapidement vers les faibles dimensions, en fonction de l'inverse du volume au carré (ou dimension à la puissance 6). Ceci limite l'utilisation des méthodes optiques de détection aux particules voisines de 100 nm. Les forces intermoléculaires, qui sont des forces à court rayon d'action vont s'exercer dans le cas des particules de l'ordre du nanomètre, c'est à dire à l'extrémité inférieure du spectre. Les nanoparticules les plus fines ne donneront pas des poudres avec des grains indépendants des autres.

## RÉFÉRENCES :

- [1] Fontan J. Terminologie pour désigner une pollution particulaire. Pollution atmosphérique, 2002, n°174, p 177-179.
- [2] Chaudret B. Chimie organométallique et nanoparticules. L'actualité chimique, octobre-novembre 2005, n° 290-291, pp. 33 – 43
- [3] Corriu R., Verdaguer M. Chimie moléculaire et nanosciences. L'actualité chimique, octobre-novembre 2005, n° 290-291, pp 14–29.
- [4] Fontan J. Dimensions, dimensions moyennes, fonctions de distribution d'un aérosol. Pollution atmosphérique, 2002, n° 175, p 327-335.

## **Annexe I-2 : Etudes théoriques et expérimentales sur la physique et la mécanique des particules ultrafines**

La production de nanoparticules avec le développement des nanotechnologies est un phénomène nouveau. Les particules ultrafines (ou nanoparticules) ont toutefois fait l'objet de nombreuses études théoriques et expérimentales depuis le début du XX<sup>ème</sup> siècle avec une accélération dans la deuxième moitié en raison de la présence de ces particules dans divers secteurs de l'industrie (dont le nucléaire), avec la pollution radioactive de l'air due aux explosions nucléaires expérimentales, à la radioactivité naturelle, aux pollutions de l'atmosphère d'origines diverses (industries, transports, etc). On peut ainsi rappeler que les théories du coefficient de diffusion brownienne, de la mobilité dans un champ électrique de ces particules sont dues il y a un siècle à Einstein et Langevin. L'étude théorique du déplacement de ces particules dans un fluide est compliquée par le fait que la mécanique des fluides classique ne s'applique plus, lorsque la dimension des particules est du même ordre de grandeur ou inférieur, dans les conditions normales de température et de pression, au libre parcours moyen des molécules du gaz (environ 0,06  $\mu\text{m}$ ), dans lequel elles sont en suspension [1]. Il faut faire appel à la théorie cinétique des gaz pour les plus fines et utiliser des formules de correction pour étendre le domaine d'application de la mécanique des fluides pour les plus grosses (100 nm) (utilisation de «la théorie du glissement» de Maxwell). Lorsque la pression du gaz diminue le libre parcours moyen des molécules augmente et par voie de conséquence la limite d'application de la mécanique des fluides classique. En ce qui concerne les propriétés mécaniques, la vitesse de chute sous l'effet de la gravité, appelée vitesse de sédimentation, est négligeable. L'inertie des nanoparticules est faible comparée à celle des particules microniques. On peut considérer que les nanoparticules suivent les filets d'air lorsqu'ils sont déviés par un obstacle ou dans une conduite. Le comportement de ces particules est ainsi régi essentiellement par la diffusion brownienne ou agitation thermique. Le coefficient de diffusion  $D_i$ , qui permet d'exprimer le déplacement des particules (projeté sur un axe le déplacement  $\Delta x$  pendant un temps  $t$  est donné par la formule d'Einstein  $\overline{\Delta x^2} = 2D_i t$  où  $D_i$  est le coefficient de diffusion) augmente avec l'inverse du carré du diamètre donc rapidement lorsque la dimension de la particule diminue. Pour une particule de diamètre 1  $\mu\text{m}$  et de densité égale à 1, le déplacement en 1 seconde, due à la diffusion, est de  $3,54 \cdot 10^{-2}$  cm par minute alors que la vitesse de sédimentation est de 0,208 cm par minute. La sédimentation est donc plus importante que la diffusion. A 0,1  $\mu\text{m}$  la diffusion devient prépondérante, les valeurs sont respectivement de 0,177 et  $5,18 \cdot 10^{-3}$  cm par minute. En raison de cette agitation thermique, plus efficace que la

sédimentation, les particules vont rapidement se déposer sur les parois d'un récipient, d'une conduite, les fibres d'un filtre et ce d'autant plus qu'elles sont plus fines. Il est donc relativement facile d'arrêter les nano particules (Fontan et al. 1965) [2], contrairement à ce qui est parfois avancé. Pour mesurer leurs caractéristiques, il faut par contre des conduites de prélèvement très courtes pour éviter des pertes sur les parois. Dans l'appareil respiratoire, si les particules sont inférieures à 10 nm elles vont se déposer en partie dans le nasopharynx, les bronches. Les particules les plus pénétrantes sont celles entre 100 et 1000 nm (0,1 et 1  $\mu\text{m}$ ). Ce sont aussi celles qui sont proportionnellement les plus exhalées. Il n'est donc pas exact de dire que les particules les plus fines sont les plus pénétrantes. Elles peuvent toutefois constituer un danger en se déposant dans le nez, si en suivant le nerf olfactif elles pénètrent dans le cerveau, comme cela a été montré sur des rats.

H.C. Wang et al (1991) [3] envisagent théoriquement un rebond des particules sur les parois des filtres à fibres ou à membrane, lorsque l'énergie d'agitation thermique devient supérieure à l'énergie d'adhésion de la particule sur la surface, mais cette énergie due aux forces d'interaction avec la surface est mal connue (voir paragraphe sur les forces d'interaction). Ainsi l'efficacité de la filtration pourrait diminuer en dessous de 10 nm. Ce phénomène n'a pas été vérifié expérimentalement. On observe au contraire pour le dépôt actif du radon (ou de gaz produits lors de la fission nucléaire), avec des particules de l'ordre du nanomètre [2], une grande efficacité de la filtration. Ce phénomène de rebond n'a pas été observé lors de la coagulation des particules ultrafines. Comme on le verra en *Annexe 1.3* les forces intermoléculaires entre nanoparticules et surfaces mériteraient toutefois d'être mieux connues, en fonction de la nature des matériaux et des dimensions des particules.

## RÉFÉRENCES :

- [1] Fontan J., Tymen G. Propriétés mécaniques et physiques d'un aérosol. *Pollution Atmosphérique*, 2003, n°178, p 167-176.
- [2] Fontan J. Blanc D., Bouville A. Détermination du rendement de collection des filtres à fibres pour des particules ultrafines. *Health Physics* 1965, vol. 11, p 15-20.
- [3] Wang H.C., Kasper G. Filtration efficiency of nanometer-size aerosol particles. *J. aerosol Sci.*, 1991, vol 22, n°1, pp 31-40.

## Annexe I-3 : Forces intermoléculaires et adhésion des particules

Une fois formées les particules sont susceptibles d'exercer entre elles un certain nombre d'interactions responsables parfois de leur agglomération. Il s'agit de forces intermoléculaires, bien plus faibles que celles qui régissent la formation de liaisons entre atomes, mais dont la multiplication sur différents sites, se traduit par des énergies non négligeables qui expliquent l'adhésion des particules sur des surfaces comme les fibres d'un filtre ou l'adhésion de particules entre elles après une collision.

Parmi ces forces intermoléculaires, on distingue :

### 1. Forces intermoléculaires, non spécifiques, non saturables

#### Forces électrostatiques

Deux surfaces portant des charges exercent l'un sur l'autre des interactions :

- a) de répulsion quand des charges sont identiques, ce qui équivaldra dans le cas des particules au maintien de leur autonomie et empêchera leur agrégation ou agglomération. Des forces attractives s'exercent cependant dans le cas de particules conductrices portant des charges de même signe, par suite du phénomène d'influence électrique,
- b) d'attraction, quand les charges sont opposées, ce qui accélère le phénomène de coagulation.

Les forces entre charges ponctuelles sont d'intensité inversement proportionnelles au carré de la distance entre les charges ( $1/d^2$ ). Elles sont plus fortes dans l'air que dans l'eau dont la constante diélectrique élevée limite le rapprochement des entités chargées.

Les nanoparticules électriquement chargées et les interactions ion-dipôle. Une particule chargée produit à son voisinage un champ électrique qui a pour effet de polariser les molécules environnantes d'où une attraction entre la particule et les molécules, suivie de la formation d'un "cluster" (agrégat). Les molécules peuvent avoir un moment dipolaire permanent (cas de la vapeur d'eau) ce qui entraîne la formation de clusters de masse plus élevée et plus stables. Dans le cas de l'air ionisé le volume de l'ion positif est environ multiplié par 8 en donnant un cluster du type  $H^+(H_2O)_n$ .

Si les nanoparticules portent une ou plusieurs charges électriques, les propriétés peuvent donc être modifiées. Elles vont agglomérer en surface des molécules dipolaires, comme celles de la vapeur d'eau. Un aérosol particulier de nanoparticules a fait l'objet d'études dans les années 1960-1970 en liaison avec la radioprotection dans les mines d'uranium. C'est le dépôt actif du radon. En se désintégrant l'atome de radon, qui est un gaz rare, donne successivement des isotopes du polonium, du bismuth, du plomb qui sont des atomes ionisés. Ils agglomèrent des molécules dipolaires pour atteindre une dimension de l'ordre d'environ 1,5 nm (Huertas et al) [1]. Ils se fixent ensuite sur les particules présentes. En atmosphère filtrée, c'est-à-dire avec un dépôt actif non fixé sur des particules, celui-ci est très facilement arrêté par des filtres, ce qui illustre bien l'influence du mouvement brownien dans la dynamique de ces nanoparticules et la filtration. Dans les normes de radioprotection pour les mines d'uranium, la fraction non fixée du dépôt actif est en principe prise en compte.

#### Forces de Van der Waals

Liées à l'existence de dipôles, permanents, induits ou instantanés, ces forces sont d'origine électrostatique et s'exercent toujours. Leur intensité diminue très vite en fonction de l'éloignement des particules, cette intensité étant proportionnelle à l'inverse de la distance à la 6<sup>ème</sup> puissance ( $1/d^6$ ). Dans tout fluide les interactions attractives ont lieu davantage que les répulsives.

### Interactions hydrophobes

Dans l'eau, seulement certaines molécules s'associent par un phénomène entropique (augmentation du désordre des molécules d'eau solvatant les molécules).

### Interactions d'empilement, ou de stacking

Celles-ci s'exercent entre systèmes aromatiques ou hétéroaromatiques plans. On les rencontre dans l'ADN où elles contribuent à la stabilité de la double hélice.

## 2. Forces intermoléculaires, spécifiques, saturables

### Liaison hydrogène

Lorsqu'un atome d'hydrogène est lié à un atome très électronégatif, il peut agir comme lien entre 2 atomes électronégatifs. Pour cela, il faut que la particule présente sur sa surface des groupements O-H ou N-H.

### Liaison de transfert de charge

Un site donneur d'électrons peut s'associer à un autre site accepteur d'électrons. Dans le cas des particules, cela suppose que les 2 caractéristiques, donneur et accepteur, se trouvent disponibles sur 2 particules différentes pour qu'une interaction puisse s'exercer.

Les phénomènes d'adsorption procèdent des mêmes mécanismes que ci-dessus ; il en est de même des phénomènes de complexation.

**En conclusion** sur les forces intermoléculaires, à l'exception des structures chimiques bien définies pour lesquelles on peut, à partir des définitions ci-dessus, prévoir des interactions conduisant à l'agrégation des particules, les forces qui s'exercent toujours seront les forces de Van der Waals ou les forces ion-dipôle.

Remarquons cependant que ces interactions dépendent fortement de la nature et de la dimension des particules. Ce qui nécessite un approfondissement des connaissances dans le cas des nanoparticules.

### **RÉFÉRENCE :**

[1] Huertas M.L., Marty A.M., Fontan J., Blanc. D. Measurement of the mobility and the diffusion coefficient of ultrafine radioactive particles in the air. Journal of the Atmospheric Science, 1969, vol 26, n°2, p 274-280.

## Annexe I-4 : Métrologie

La mesure de la masse peut se faire à l'aide d'un quartz piezo électrique dont la fréquence de vibration diminue avec le dépôt des particules sur le cristal. Les grosses particules sont éliminées en amont. Quelques nanogrammes de particules peuvent être détectés.

La méthode classique pour mesurer la concentration en nombre consiste à produire la condensation d'une vapeur sursaturée (vapeur d'eau, butanol) autour de la particule qui sert de noyau de condensation et à détecter la particule après grossissement, par méthode optique. Avec des précautions, des particules de quelques nanomètres peuvent être détectées.

La mesure du spectre granulométrique est obtenue en chargeant les particules dans un air ionisé. La probabilité d'acquérir une ou plusieurs charges électriques diminue lorsque la dimension décroît. Les particules sont sélectionnées en fonction de leur mobilité électrique. La détection peut se faire en mesurant un courant électrique ou en couplant cet appareil avec un compteur à condensation dont le principe a été décrit ci-dessus. Des appareils commerciaux existent pour des particules au-delà de quelques nanomètres et plus couramment au dessus de 10 nm.

Le spectre granulométrique peut aussi être obtenu en mesurant le coefficient de diffusion thermique des particules et en sélectionnant les particules en fonction de leur coefficient de diffusion. Différents types d'appareil existent mais ils souffrent d'un manque de précision, en raison du caractère stochastique du phénomène de diffusion. La méthode est d'autant plus sensible que les particules sont petites.

La mesure de la concentration en surface est complexe et délicate et a été peu utilisée. Dans "l'epiphaniometer", du plomb radioactif provenant d'une source d'actinium se dépose sur la particule de façon proportionnelle à sa dimension. La quantité de plomb est mesurée par sa radioactivité. On utilise aussi l'adsorption sur la surface de la particule de gaz comme azote, krypton, argon, etc.

### Méthodes physicochimiques

Le contrôle doit s'exercer sur la taille des particules, leur dispersion en taille, leur état d'agrégation et l'état de surface. Les méthodes suivantes peuvent être utilisées :

- microscopie électronique à transmission (TEM), pour déterminer la structure interne d'un nanoobjet ;
- microscopie électronique à haute résolution (HREM, à des niveaux de 0,2nm), même application, mais en plus analyse chimique possible ;
- scanning electron microscopy (SEM) (microscopie électronique à balayage), permet de révéler la topologie d'une surface ;
- diffraction des rayons X aux grands angles pour l'étude des arrangements atomiques dans les cristaux ;
- spectroscopies Infra Rouge, RMN : étude des fonctions chimiques et des squelettes moléculaires ;
- microscopes à champ de force (AFM, Atomic Force Microscopy) and STM (scanning tunneling microscopic, microscope à effet tunnel), donne des informations structurales et électroniques avec une résolution atomique).

## Mesures des forces

(mesures quantitatives des propriétés mécaniques de surface).

Utiles pour mesurer l'élasticité d'une protéine ou d'un nucléotide, pour déterminer les forces de liaison et d'autres propriétés moléculaires. Malheureusement nous manquons de méthodes de caractérisation pour cette gamme de taille. Des recherches sont en cours pour relier des propriétés électriques à ces forces.

Par utilisation d'un faisceau laser simple, pince optique (optical tweezer), on peut déplacer une particule sur une surface plane. On peut ainsi mesurer des forces interatomiques et des déplacements.

## Caractérisation de molécules uniques.

Par microscopie électronique et AFM/STM des mesures de morphologie sont possibles. De même il est possible de localiser différents types de liaisons dans des protéines repliées et des nucléotides.

### **Remarques :**

1 - Une très large distribution des tailles peut conduire à des mesures précises difficiles par les techniques spectroscopiques (IR, RMN) ou par des méthodes de diffraction qui ne conduiront qu'à des valeurs moyennes. D'où la nécessité de connaître la distribution des tailles. Celle-ci peut être atteinte par des mesures de diffusion de lumière. Couplées à des observations en microscopie électronique elles permettent une bonne caractérisation de la dispersion.

2 - Il n'existe pas de normes de mesures standards universelles, même avec des appareils très perfectionnés on peut observer de grandes variations dans les mesures. Sans normalisation on ne peut calibrer les outils et les machines à l'échelle nanométrique, ni comparer les résultats d'un laboratoire à un autre. Il en est de même pour la morphologie et la distribution de taille. On commence cependant à disposer d'objets de référence permettant une calibration pour les mesures de longueur (AFM) et pour la caractérisation de la pointe utilisée en AFM.

3 - Tout récemment, des chercheurs du service des matériaux et microstructures du CEA et du CNRS ont observé pour la première fois, in situ et en temps réel, la croissance de nanoparticules et ont caractérisé quantitativement les paramètres essentiels : forme, taille, distribution, à partir de la diffusion de rayons X du rayonnement synchrotron ;générale, cette méthode devrait permettre le suivi d'une fabrication.

### **RÉFÉRENCES :**

- Person A., Tymen G. Mesurage des particules en relation avec la santé. Revue Pollution Atmosphérique, 2005, sous presse.
- Renoux A. Boulaud D. Les Aérosols Physique et Métrologie. Lavoisier TEC DOC , 1998.

## **Annexe I-5 : Classification des nanostructures manufacturées en fonction de leur dimension**

Des formes géométriques présentant des symétries permettent de réduire le nombre de dimensions qui les caractérisent.

### **1) Objets en une dimension nanométrique :**

- Films minces, couches minces,
- Surfaces, surfaces organisées ou travaillées

### **2) Objets en 2 dimensions nanométriques :**

- Nanotubes de carbone ou minéraux
- Nanofilaments utilisés en optique, magnétisme, électronique (silicium, dérivés du gallium et de l'indium)
- Biopolymères (ADN)

### **3) Objets en 3 dimensions nanométriques :**

- Fullerènes ( $C_{60}$ , 3<sup>ième</sup> forme allotropique du carbone après le diamant et le graphite)
- Dendrimères (polymères de structure bien définie)
- Nanoparticules sphériques ou autres formes géométriques avec 3 dimensions nanométriques
- Grains quantiques (nanoparticules de semi conducteur)

## **ANNEXE II : QUELQUES APPLICATIONS DES NANOTECHNOLOGIES**

***La présente annexe illustre la Section 2 du Chapitre 1***

- Peintures, couches protectrices (fenêtres auto-nettoyantes)
- Remédiation des sols (nanoparticules de fer pour transformer les hydrocarbures chlorés) et purification de l'eau
- Séparation sélective des actinides et des métaux lourds, séparation des isotopes de certains métaux par nanomatériaux greffés (unités chélatantes sur polymère organique ou matrice de silice), application en dépollution
- Catalyse hétérogène
- Convertisseurs d'énergie photovoltaïque
- Encapsulation et fixation réversible de molécules (vectorisation de médicaments)
- Cosmétique, écrans solaires
- Electronique (semi-conducteurs...)
- Piles à combustible, batteries
- Photonique moléculaire :
  - Télécommunications, basées sur les méthodes optiques
  - Stockage et traitement de l'information, magnétiques ou optiques
- Ecrans plats, plots quantiques
- Capteurs
- Fabrication de nanocéramiques
- Synthèse chimique par voie hétérogène
- Lubrifiants
- Additifs de carburants (diesel)
- Dans le domaine biologique et médical, implants, miniaturisation des capteurs (exploration et traitement in situ)
- Vêtements militaires, résistant aux attaques chimiques et équipés de capteurs
- Effets «lotus» par des nanoparticules de polymère superhydrophile (nanoparticules de silice de 10 nm et du chlorhydrate de polyallylamine) formant une couche antibuée et antireflet sur les vitres et les miroirs
- Matériaux magnétiques commercialisés à grande échelle
- Charges des élastomères cosmétiques (antiUV), combustible automobile
- Sport : balles de tennis, raquettes, skis.

# ANNEXE III : ASPECTS TOXICOLOGIQUES, SANITAIRES ET ÉCOTOXICOLOGIQUES

La présente annexe précise les points exposés dans le Chapitre 2

## Annexe III-1 : Etudes expérimentales concernant les nanoparticules manufacturées

Tableau 1 : Modèle in vitro acellulaire

| Effet                | Type de particules | Niveau de dose | Références    |
|----------------------|--------------------|----------------|---------------|
| Adsorption protéines | Noir de Carbone    | 0,31 mg/ml     | Kendall, 2004 |

Tableau 2 : Modèle in vitro cellulaire

| Effet                            | Type de particules                                                                                 | Niveau de dose                                  | Modèle cellulaire                                                                                                                     | Références                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                      |
|----------------------------------|----------------------------------------------------------------------------------------------------|-------------------------------------------------|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| Pénétration intra-cellulaire     | TiO <sub>2</sub> ; Polystyrène                                                                     | 0,03-3 µg / 10 <sup>6</sup> macrophages         | Macrophages, J774-A1 ; A549 ; pneumocyte 2                                                                                            | Möller, 2002 ; Stearns, 2001 ; Geys, 2006                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                       |
| Inhibition de la phagocytose     | Noir de Carbone                                                                                    | 0,39 µg/ml ; 125-500 µg                         | Macrophages, J774-A1 ; J774-2                                                                                                         | Lunborg, 1999, 2001, 2005 ; Möller, 2002, 2005 ; Renwick, 2001, 2004                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                            |
| Réponse inflammatoire et toxique | Noir de Carbone ; hématite ; polystyrène ; silicasol ; silice colloïdale ; SWCN ; TiO <sub>2</sub> | 1 µg/ml à 10 mg/ml ; 6 à 100 µg/cm <sup>2</sup> | Macrophage ; lignée Mono Mac 6 ; fibroblaste ; NHBE ; A549 ; HBEC ; C10 ; Calu-3 ; pneumocyte 2 ; MLE15 ; BEAS-2B ; HaCaT ; SHE ; CHO | Barlow, 2005; Beck-Speier, 2001, 2005; Brown, 2000, 2001, 2004; Donaldson, 1998; Geys, 2006; Gurr, 2005; Kendall, 2004; Kim, 2003, 2005; Lundborg, 1999, 2001, 2005; Möller, 2002, 2005; Penn, 2005; Rahman, 2002; Ramage, 2004a, 2004b; Reibman, 2002; Renwick, 2001, 2004; Shukla, 2000; Singal, 2005; Shvedova, 2003; Stearns, 2001; Stone, 2000; Tamaoki, 2004; Wilson, 2002; Wottrich, 2004; Uchino, 2002. |

Tableau 3 : Modèle ex vivo

| Effet                        | Type de particules              | Niveau de dose                                                                               | Modèle tissulaire                         | Références                                                  |
|------------------------------|---------------------------------|----------------------------------------------------------------------------------------------|-------------------------------------------|-------------------------------------------------------------|
| Translocation,               | Iridium ;<br>polystyrène ; TiO2 | 5 µg/ml ; 10 <sup>7</sup> p/cm <sup>3</sup> ;<br>5,2 10 <sup>12</sup> à 5,2 10 <sup>14</sup> | Poumon isolé ;<br>explant trachéal        | Mering, 2005<br>Hamoir, 2003<br>Nemmar, 2005<br>Churg, 1998 |
| Réponse<br>pro-inflammatoire | TiO2                            | 500 µg/cm <sup>3</sup><br>5 µg/ml                                                            | Explant trachéal ;<br>biopsie intestinale | Churg, 1999;<br>Powel, 2000                                 |

Tableau 4 : Modèle in vivo (inhalation)

| Effet                                                                                                                                                                                        | Type de particules                                                                                                                                                                         | Niveau de dose                             | Modèle animal      | Références                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                   |
|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|--------------------------------------------|--------------------|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| Déposition,<br>translocation ;<br>effet cardio-<br>vasculaire ;<br>hyper réactivité<br>bronchique ;<br>réaction allergique ;<br>inflammation ;<br>inhibition<br>prolifération<br>cellulaire. | Argent;<br>Cadmium (oxyde);<br>Noir de Carbone;<br>Fer;<br>Fer (oxyde);<br>Iridium;<br>Ni;<br>Platine ;<br>PTFE ; Sels<br>d’ammonium ; TiO <sub>2</sub> ;<br>Vanadium;<br>Vanadium (oxyde) | 1µg/m <sup>3</sup> à 100 mg/m <sup>3</sup> | Rat, souris, lapin | Gallagher, 2003; Kapp,<br>2004; Takenaka, 2001,<br>2004; Semmler, 2004;<br>Harder, 2005; Bernudez,<br>2004; Barrett, 2003; Elder,<br>2000; Johnston, 1996,<br>2000; Zhou, 2003a,<br>2003b; Elder, 2004;<br>Gilmour, 2004; Hext,<br>2005; Oberdörster, 2000,<br>2002, 2004; Hext, 2002;<br>Baggs, 1997; Driscoll,<br>1996; Pinkerton, 2004;<br>Casee, 2002; Kreyling,<br>2002 |

Tableau 5 : Modèle in vivo (injection intra-vasculaire)

| Effet                                                           | Type de particules              | Niveau de dose                                | Modèle animal | Références                                      |
|-----------------------------------------------------------------|---------------------------------|-----------------------------------------------|---------------|-------------------------------------------------|
| Thrombose veineuse ;<br>passage barrière<br>hémato-encéphalique | Noir de Carbone,<br>polystyrène | 1-5.10 <sup>7</sup> particules ;<br>0,5 ng/kg | Souris ; rat  | Khandoga, 2004 ;<br>Silva, 2005 ;<br>Yang, 2004 |

Tableau 6 : Modèle in vivo (injection intra-trachéale)

| Effet                                                                   | Type de particules                                                                                              | Niveau de dose | Modèle animal                | Références                                                                                                                                                                                                                                                                                                               |
|-------------------------------------------------------------------------|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----------------|------------------------------|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| Inflammation ;<br>oxydation cerveau ;<br>sécrétion VEGF ;<br>thrombose. | Noir de Carbone;<br>Co;<br>Fullerene;<br>Ni;<br>Polystyrène;<br>Silice colloïdale;<br>SWCN;<br>TiO <sub>2</sub> | 40 µg à 5 mg   | Rat ;<br>hamster ;<br>souris | Brown, 2000;<br>Brown, 2001;<br>Chang, 2005;<br>Dick, 2003;<br>Duffin, 2002;<br>Höhr, 2002;<br>Kaewamatawong, 2005;<br>Lam, 2004;<br>Lambert, 2003a;<br>Lambert, 2003b;<br>Li, 1999;<br>Nemmar, 1999, 2002b, 2003;<br>Oberdöster E, 2004;<br>Renwick, 2004;<br>Tin-Tin-Win-Shwe, 2005;<br>Warheit, 2004;<br>Zhang, 1998. |

Tableau 7 : Essais cliniques chez l’homme

| Effet                                       | Type de particules                 | Niveau de dose                                                                     | Références                                                                                                                              |
|---------------------------------------------|------------------------------------|------------------------------------------------------------------------------------|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| Déposition,<br>clairance,<br>translocation. | Noir de Carbone,<br>huile sébacate | 10-50 µg/m <sup>3</sup><br>5 10 <sup>4</sup> – 2 10 <sup>6</sup> p/cm <sup>3</sup> | Brown, 2002 ;<br>Chalupa, 2004 ;<br>Daigle, 2003 ;<br>Frampton, 2001, 2004 ;<br>Jacques, 2000 ;<br>Nemmar, 2002a ;<br>Pietropaoli, 2004 |

## RÉFÉRENCES DES ÉTUDES EXPÉRIMENTALES CONCERNANT LES NANOPARTICULES MANUFACTURÉES

- 1 - Alessandrini F, Ziesenis A, Takenaka S, Karg E, Heyder J, Ring J, Behrendt H. Effects of inhaled CdO particles on the sphingolipid synthesis of rat lungs. *Inhal Toxicol* 2003;15(4):343-56.
- 2 - Baggs RB, Ferin J, Oberdorster G. Regression of pulmonary lesions produced by inhaled titanium dioxide in rats. *Vet Pathol* 1997;34(6):592-7.
- 3 - Barlow PG, Donaldson K, MacCallum J, Clouter A, Stone V. Serum exposed to nanoparticle carbon black displays increased potential to induce macrophage migration. *Toxicol Lett* 2005;155(3):397-401.
- 4 - Barrett EG, Rudolph K, Bowen LE, Muggenburg BA, Bice DE. Effect of inhaled ultrafine carbon particles on the allergic airway response in ragweed-sensitized dogs. *Inhal Toxicol* 2003;15(2):151-65.
- 5 - Beck-Speier I, Dayal N, Karg E, Maier KL, Roth C, Ziesenis A, Heyder J. Agglomerates of ultrafine particles of elemental carbon and TiO<sub>2</sub> induce generation of lipid mediators in alveolar macrophages. *Environ Health Perspect* 2001;109 Suppl 4:613-8.
- 6 - Beck-Speier I, Dayal N, Karg E, Maier KL, Schumann G, Schulz H, Semmler M, Takenaka S, Stettmaier K, Bors W, Ghio A, Samet JM, Heyder J. Oxidative stress and lipid mediators induced in alveolar macrophages by ultrafine particles. *Free Radic Biol Med* 2005;38(8):1080-92.
- 7 - Beck-Speier I, Dayal N, Karg E, Maier KL, Schumann G, Semmler M, Koelsch SM. Oxymetazoline inhibits proinflammatory reactions: effect on arachidonic Acid-derived metabolites. *J Pharmacol Exp Ther* 2006;316(2):843-51.
- 8 - Beckett WS, Chalupa DF, Pauly-Brown A, Speers DM, Stewart JC, Frampton MW, Utell MJ, Huang LS, Cox C, Zareba W, Oberdorster G. Comparing inhaled ultrafine versus fine zinc oxide particles in healthy adults: a human inhalation study. *Am J Respir Crit Care Med* 2005;171(10):1129-35.
- 9 - Bermudez E, Mangum JB, Wong BA, Asgharian B, Hext PM, Warheit DB, Everitt JI. Pulmonary responses of mice, rats, and hamsters to subchronic inhalation of ultrafine titanium dioxide particles. *Toxicol Sci* 2004;77(2):347-57.
- 10 - Brown DM, Stone V, Findlay P, MacNee W, Donaldson K. Increased inflammation and intracellular calcium caused by ultrafine carbon black is independent of transition metals or other soluble components. *Occup Environ Med* 2000;57(10):685-91.
- 11 - Brown DM, Wilson MR, MacNee W, Stone V, Donaldson K. Size-dependent proinflammatory effects of ultrafine polystyrene particles: a role for surface area and oxidative stress in the enhanced activity of ultrafines. *Toxicol Appl Pharmacol* 2001;175(3):191-9.
- 12 - Brown JS, Zeman KL, Bennett WD. Ultrafine particle deposition and clearance in the healthy and obstructed lung. *Am J Respir Crit Care Med* 2002;166(9):1240-7.
- 13 - Brown DM, Donaldson K, Borm PJ, Schins RP, Dehnhardt M, Gilmour P, Jimenez LA, Stone V. Calcium and ROS-mediated activation of transcription factors and TNF-alpha cytokine gene expression in macrophages exposed to ultrafine particles. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol* 2004;286(2):L344-53.
- 14 - Cassee FR, Arts JH, Fokkens PH, Spoor SM, Boere AJ, van Bree L, Dormans JA. Pulmonary effects of ultrafine and fine ammonium salts aerosols in healthy and monocrotaline-treated rats following short-term exposure. *Inhal Toxicol* 2002;14(12):1215-29.
- 15 - Cassee FR, Muijsers H, Duistermaat E, Freijer JJ, Geerse KB, Marijnissen JC, Arts JH. Particle size-dependent total mass deposition in lungs determines inhalation toxicity of cadmium chloride aerosols in rats. Application of a multiple path dosimetry model. *Arch Toxicol* 2002;76(5-6):277-86.
- 16 - Chalupa DC, Morrow PE, Oberdorster G, Utell MJ, Frampton MW. Ultrafine particle deposition in subjects with asthma. *Environ Health Perspect* 2004;112(8):879-82.
- 17 - Chang CC, Chiu HF, Wu YS, Li YC, Tsai ML, Shen CK, Yang CY. The induction of vascular endothelial growth factor by ultrafine carbon black contributes to the increase of alveolar-capillary permeability. *Environ Health Perspect* 2005;113(4):454-60.
- 18 - Churg A, Stevens B, Wright JL. Comparison of the uptake of fine and ultrafine TiO<sub>2</sub> in a tracheal explant system. *Am J Physiol* 1998;274(1 Pt 1):L81-6.
- 19 - Churg A, Gilks B, Dai J. Induction of fibrogenic mediators by fine and ultrafine titanium dioxide in rat tracheal explants. *Am J Physiol* 1999;277(5 Pt 1):L975-82.
- 20 - Daigle CC, Chalupa DC, Gibb FR, Morrow PE, Oberdorster G, Utell MJ, Frampton MW. Ultrafine particle deposition in humans during rest and exercise. *Inhal Toxicol* 2003;15(6):539-52.
- 21 - Dick CA, Brown DM, Donaldson K, Stone V. The role of free radicals in the toxic and inflammatory effects of four different ultrafine particle types. *Inhal Toxicol* 2003;15(1):39-52.
- 22 - Donaldson K, Beswick PH, Gilmour PS. Free radical activity associated with the surface of particles: a unifying factor in determining biological activity? *Toxicol Lett* 1996;88(1-3):293-8.
- 23 - Driscoll KE, Carter JM, Howard BW, Hassenbein DG, Pepelko W, Baggs RB, Oberdorster G. Pulmonary inflammatory, chemokine, and mutagenic responses in rats after subchronic inhalation of carbon black. *Toxicol Appl Pharmacol* 1996;136(2):372-80.
- 24 - Duffin R, Tran CL, Clouter A, Brown DM, MacNee W, Stone V, Donaldson K. The Importance of Surface Area and Specific Reactivity in the Acute Pulmonary Inflammatory Response to Particles. *Ann Occup Hyg* 2002;46(Suppl 1):242-5.
- 25 - Elder AC, Gelein R, Finkelstein JN, Cox C, Oberdorster G. Pulmonary inflammatory response to inhaled ultrafine particles is modified by age, ozone exposure, and bacterial toxin. *Inhal Toxicol* 2000;12 Suppl 4:227-46.

- 26 - Elder AC, Gelein R, Azadniv M, Frampton M, Finkelstein J, Oberdorster G. Systemic effects of inhaled ultrafine particles in two compromised, aged rat strains. *Inhal Toxicol* 2004;16(6-7):461-71.
- 27 - Frampton MW. Systemic and cardiovascular effects of airway injury and inflammation: ultrafine particle exposure in humans. *Environ Health Perspect* 2001;109 Suppl 4:529-32.
- 28 - Frampton MW, Utell MJ, Zareba W, Oberdorster G, Cox C, Huang LS, Morrow PE, Lee FE, Chalupa D, Frasier LM, Speers DM, Stewart J. Effects of exposure to ultrafine carbon particles in healthy subjects and subjects with asthma. *Res Rep Health Eff Inst* 2004(126):1-47; discussion 49-63.
- 29 - Gallagher J, Sams R, 2nd, Inmon J, Gelein R, Elder A, Oberdorster G, Prahalad AK. Formation of 8-oxo-7,8-dihydro-2'-deoxyguanosine in rat lung DNA following subchronic inhalation of carbon black. *Toxicol Appl Pharmacol* 2003;190(3):224-31.
- 30 - Geiser M, Rothen-Rutishauser B, Kapp N, Schurch S, Kreyling W, Schulz H, Semmler M, Im Hof V, Heyder J, Gehr P. Ultrafine particles cross cellular membranes by nonphagocytic mechanisms in lungs and in cultured cells. *Environ Health Perspect* 2005;113(11):1555-60.
- 31 - Geys J, Coenegrachts L, Vercammen J, Engelborghs Y, Nemmar A, Nemery B, Hoet PH. In vitro study of the pulmonary translocation of nanoparticles: a preliminary study. *Toxicol Lett* 2006;160(3):218-26.
- 32 - Gilmour PS, Ziesenis A, Morrison ER, Vickers MA, Drost EM, Ford I, Karg E, Mossa C, Schroepel A, Ferron GA, Heyder J, Greaves M, MacNee W, Donaldson K. Pulmonary and systemic effects of short-term inhalation exposure to ultrafine carbon black particles. *Toxicol Appl Pharmacol* 2004;195(1):35-44.
- 33 - Gurr JR, Wang AS, Chen CH, Jan KY. Ultrafine titanium dioxide particles in the absence of photoactivation can induce oxidative damage to human bronchial epithelial cells. *Toxicology* 2005;213(1-2):66-73.
- 34 - Hamoir J, Nemmar A, Halloy D, Wirth D, Vincke G, Vanderplasschen A, Nemery B, Gustin P. Effect of polystyrene particles on lung microvascular permeability in isolated perfused rabbit lungs: role of size and surface properties. *Toxicol Appl Pharmacol* 2003;190(3):278-85.
- 35 - Harder V, Gilmour P, Lentner B, Karg E, Takenaka S, Ziesenis A, Stampfl A, Kodavanti U, Heyder J, Schulz H. Cardiovascular responses in unrestrained WKY rats to inhaled ultrafine carbon particles. *Inhal Toxicol* 2005;17(1):29-42.
- 36 - Hext PM, Warheit DB, Mangum JB, Asgharian B, Wong BA, Bermudez E, Everitt JI. Comparison of the Pulmonary Responses to Inhaled Pigmentary and Ultrafine Titanium Dioxide Particles in the Rat, Mouse and Hamster. *Ann Occup Hyg* 2002;46(Suppl 1):191-6.
- 37 - Hext PM, Tomenson JA, Thompson P. Titanium dioxide: inhalation toxicology and epidemiology. *Ann Occup Hyg* 2005;49(6):461-72.
- 38 - Hohr D, Steinfartz Y, Schins RP, Knaapen AM, Martra G, Fubini B, Borm PJ. The surface area rather than the surface coating determines the acute inflammatory response after instillation of fine and ultrafine TiO<sub>2</sub> in the rat. *Int J Hyg Environ Health* 2002;205(3):239-44.
- 39 - Jaques PA, Kim CS. Measurement of total lung deposition of inhaled ultrafine particles in healthy men and women. *Inhal Toxicol* 2000;12(8):715-31.
- 40 - Jeong CH, Hopke PK, Chalupa D, Utell M. Characteristics of nucleation and growth events of ultrafine particles measured in Rochester, NY. *Environ Sci Technol* 2004;38(7):1933-40.
- 41 - Johnston CJ, Finkelstein JN, Gelein R, Baggs R, Oberdorster G. Characterization of the early pulmonary inflammatory response associated with PTFE fume exposure. *Toxicol Appl Pharmacol* 1996;140(1):154-63.
- 42 - Johnston CJ, Finkelstein JN, Mercer P, Corson N, Gelein R, Oberdorster G. Pulmonary effects induced by ultrafine PTFE particles. *Toxicol Appl Pharmacol* 2000;168(3):208-15.
- 43 - Kaewamatawong T, Kawamura N, Okajima M, Sawada M, Morita T, Shimada A. Acute Pulmonary Toxicity Caused by Exposure to Colloidal Silica : Particle Size Dependent Pathological Changes in Mice. *Toxicologic Pathology* 2005;33:745-51.
- 44 - Kapp N, Kreyling W, Schulz H, Im Hof V, Gehr P, Semmler M, Geiser M. Electron energy loss spectroscopy for analysis of inhaled ultrafine particles in rat lungs. *Microsc Res Tech* 2004;63(5):298-305.
- 45 - Kendall M, Brown L, Trought K. Molecular adsorption at particle surfaces: a PM toxicity mediation mechanism. *Inhal Toxicol* 2004;16 Suppl 1:99-105.
- 46 - Khandoga A, Stampfl A, Takenaka S, Schulz H, Radykewicz R, Kreyling W, Krombach F. Ultrafine particles exert prothrombotic but not inflammatory effects on the hepatic microcirculation in healthy mice in vivo. *Circulation* 2004;109(10):1320-5.
- 47 - Kim H, Liu X, Kobayashi T, Kohyama T, Wen FQ, Romberger DJ, Conner H, Gilmour PS, Donaldson K, MacNee W, Rennard SI. Ultrafine carbon black particles inhibit human lung fibroblast-mediated collagen gel contraction. *Am J Respir Cell Mol Biol* 2003;28(1):111-21.
- 48 - Kim YM, Reed W, Lenz AG, Jaspers I, Silbajoris R, Nick HS, Samet JM. Ultrafine carbon particles induce interleukin-8 gene transcription and p38 MAPK activation in normal human bronchial epithelial cells. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol* 2005;288(3):L432-41.
- 49 - Kreyling WG, Semmler M, Erbe F, Mayer P, Takenaka S, Schulz H, Oberdorster G, Ziesenis A. Translocation of ultrafine insoluble iridium particles from lung epithelium to extrapulmonary organs is size dependent but very low. *J Toxicol Environ Health A* 2002;65(20):1513-30.
- 50 - Lam CW, James JT, McCluskey R, Hunter RL. Pulmonary toxicity of single-wall carbon nanotubes in mice 7 and 90 days after intratracheal instillation. *Toxicol Sci* 2004;77(1):126-34.

- 51 - Lambert AL, Trasti FS, Mangum JB, Everitt JI. Effect of preexposure to ultrafine carbon black on respiratory syncytial virus infection in mice. *Toxicol Sci* 2003;72(2):331-8.
- 52 - Lambert AL, Mangum JB, DeLorme MP, Everitt JI. Ultrafine carbon black particles enhance respiratory syncytial virus-induced airway reactivity, pulmonary inflammation, and chemokine expression. *Toxicol Sci* 2003;72(2):339-46.
- 53 - Li XY, Brown D, Smith S, MacNee W, Donaldson K. Short-term inflammatory responses following intratracheal instillation of fine and ultrafine carbon black in rats. *Inhal Toxicol* 1999;11(8):709-31.
- 54 - Lundborg M, Johansson A, Lastbom L, Camner P. Ingested aggregates of ultrafine carbon particles and interferon-gamma impair rat alveolar macrophage function. *Environ Res* 1999;81(4):309-15.
- 55 - Lundborg M, Johard U, Lastbom L, Gerde P, Camner P. Human alveolar macrophage phagocytic function is impaired by aggregates of ultrafine carbon particles. *Environ Res* 2001;86(3):244-53.
- 56 - Lundborg M, Dahlen SE, Johard U, Gerde P, Jarstrand C, Camner P, Lastbom L. Aggregates of ultrafine particles impair phagocytosis of microorganisms by human alveolar macrophages. *Environ Res* 2006;100(2):197-204.
- 57 - Meiring JJ, Borm PJ, Bagate K, Semmler M, Seitz J, Takenaka S, Kreyling WG. The influence of hydrogen peroxide and histamine on lung permeability and translocation of iridium nanoparticles in the isolated perfused rat lung. *Part Fibre Toxicol* 2005;2:3.
- 58 - Moller W, Hofer T, Ziesenis A, Karg E, Heyder J. Ultrafine particles cause cytoskeletal dysfunctions in macrophages. *Toxicol Appl Pharmacol* 2002;182(3):197-207.
- 59 - Moller W, Brown DM, Kreyling WG, Stone V. Ultrafine particles cause cytoskeletal dysfunctions in macrophages: role of intracellular calcium. *Part Fibre Toxicol* 2005;2:7.
- 60 - Monteiro-Riviere NA, Nemanich RJ, Inman AO, Wang YY, Riviere JE. Multi-walled carbon nanotube interactions with human epidermal keratinocytes. *Toxicol Lett* 2005;155(3):377-84.
- 61 - Nemmar A, Delaunois A, Nemery B, Dessy-Doize C, Beckers JF, Sulon J, Gustin P. Inflammatory effect of intratracheal instillation of ultrafine particles in the rabbit: role of C-fiber and mast cells. *Toxicol Appl Pharmacol* 1999;160(3):250-61.
- 62 - Nemmar A, Hoylaerts MF, Hoet PH, Dinsdale D, Smith T, Xu H, Vermeylen J, Nemery B. Ultrafine particles affect experimental thrombosis in an in vivo hamster model. *Am J Respir Crit Care Med* 2002;166(7):998-1004.
- 63 - Nemmar A, Hoet PH, Vanquickenborne B, Dinsdale D, Thomeer M, Hoylaerts MF, Vanbilloen H, Mortelmans L, Nemery B. Passage of inhaled particles into the blood circulation in humans. *Circulation* 2002;105(4):411-4.
- 64 - Nemmar A, Hoylaerts MF, Hoet PH, Vermeylen J, Nemery B. Size effect of intratracheally instilled particles on pulmonary inflammation and vascular thrombosis. *Toxicol Appl Pharmacol* 2003;186(1):38-45.
- 65 - Nemmar A, Hamoir J, Nemery B, Gustin P. Evaluation of particle translocation across the alveolo-capillary barrier in isolated perfused rabbit lung model. *Toxicology* 2005;208(1):105-13.
- 66 - Oberdorster G, Finkelstein JN, Johnston C, Gelein R, Cox C, Baggs R, Elder AC. Acute pulmonary effects of ultrafine particles in rats and mice. *Res Rep Health Eff Inst* 2000(96):5-74; disc 75-86.
- 67 - Oberdorster G, Sharp Z, Atudorei V, Elder A, Gelein R, Lunts A, Kreyling W, Cox C. Extrapulmonary translocation of ultrafine carbon particles following whole-body inhalation exposure of rats. *J Toxicol Environ Health A* 2002;65(20):1531-43.
- 68 - Oberdorster G, Sharp Z, Atudorei V, Elder A, Gelein R, Kreyling W, Cox C. Translocation of inhaled ultrafine particles to the brain. *Inhal Toxicol* 2004;16(6-7):437-45.
- 69 - Oberdorster E. Manufactured nanomaterials (fullerenes, C60) induce oxidative stress in the brain of juvenile largemouth bass. *Environ Health Perspect* 2004;112(10):1058-62.
- 70 - Penn A, Murphy G, Barker S, Henk W, Penn L. Combustion-derived ultrafine particles transport organic toxicants to target respiratory cells. *Environ Health Perspect* 2005;113(8):956-63.
- 71 - Pietropaoli AP, Frampton MW, Hyde RW, Morrow PE, Oberdorster G, Cox C, Speers DM, Frasier LM, Chalupa DC, Huang LS, Utell MJ. Pulmonary function, diffusing capacity, and inflammation in healthy and asthmatic subjects exposed to ultrafine particles. *Inhal Toxicol* 2004;16 Suppl 1:59-72.
- 72 - Pinkerton KE, Zhou YM, Teague SV, Peake JL, Walther RC, Kennedy IM, Leppert VJ, Aust AE. Reduced lung cell proliferation following short-term exposure to ultrafine soot and iron particles in neonatal rats: key to impaired lung growth? *Inhal Toxicol* 2004;16 Suppl 1:73-81.
- 73 - Powell JJ, Harvey RS, Ashwood P, Wolstencroft R, Gershwin ME, Thompson RP. Immune potentiation of ultrafine dietary particles in normal subjects and patients with inflammatory bowel disease. *J Autoimmun* 2000;14(1):99-105.
- 74 - Rahman Q, Lohani M, Dopp E, Pemsel H, Jonas L, Weiss DG, Schiffmann D. Evidence that ultrafine titanium dioxide induces micronuclei and apoptosis in Syrian hamster embryo fibroblasts. *Environ Health Perspect* 2002;110(8):797-800.
- 75 - Ramage L, Proudfoot L, Guy K. Expression of C-reactive protein in human lung epithelial cells and upregulation by cytokines and carbon particles. *Inhal Toxicol* 2004;16(9):607-13.
- 76 - Ramage L, Guy K. Expression of C-reactive protein and heat-shock protein-70 in the lung epithelial cell line A549, in response to PM10 exposure. *Inhal Toxicol* 2004;16(6-7):447-52.
- 77 - Reibman J, Hsu Y, Chen LC, Kumar A, Su WC, Choy W, Talbot A, Gordon T. Size fractions of ambient particulate matter induce granulocyte macrophage colony-stimulating factor in human bronchial epithelial cells by mitogen-activated protein kinase pathways. *Am J Respir Cell Mol Biol* 2002;27(4):455-62.
- 78 - Rejman J, Oberle V, Zuhorn IS, Hoekstra D. Size-dependent internalization of particles via the pathways of clathrin- and caveolae-mediated endocytosis. *Biochem J* 2004;377(Pt 1):159-69.

- 79 - Renwick LC, Donaldson K, Clouter A. Impairment of alveolar macrophage phagocytosis by ultrafine particles. *Toxicol Appl Pharmacol* 2001;172(2):119-27.
- 80 - Renwick LC, Brown D, Clouter A, Donaldson K. Increased inflammation and altered macrophage chemotactic responses caused by two ultrafine particle types. *Occup Environ Med* 2004;61(5):442-7.
- 81 - Sayes CM, Gobin AM, Ausman KD, Mendez J, West JL, Colvin VL. Nano-C60 cytotoxicity is due to lipid peroxidation. *Biomaterials* 2005;26(36):7587-95.
- 82 - Semmler M, Seitz J, Erbe F, Mayer P, Heyder J, Oberdorster G, Kreyling WG. Long-term clearance kinetics of inhaled ultrafine insoluble iridium particles from the rat lung, including transient translocation into secondary organs. *Inhal Toxicol* 2004;16(6-7):453-9.
- 83 - Shukla A, Timblin C, Berube K, Gordon T, McKinney W, Driscoll K, Vacek P, Mossman BT. Inhaled particulate matter causes expression of nuclear factor (NF)-kappaB-related genes and oxidant-dependent NF-kappaB activation in vitro. *Am J Respir Cell Mol Biol* 2000;23(2):182-7.
- 84 - Shvedova AA, Castranova V, Kisin ER, Schwegler-Berry D, Murray AR, Gandelsman VZ, Maynard A, Baron P. Exposure to carbon nanotube material: assessment of nanotube cytotoxicity using human keratinocyte cells. *J Toxicol Environ Health A* 2003;66(20):1909-26.
- 85 - Shvedova AA, Kisin ER, Mercer R, Murray AR, Johnson VJ, Potapovich AI, Tyurina YY, Gorelik O, Arepalli S, Schwegler-Berry D, Hubbs AF, Antonini J, Evans DE, Ku BK, Ramsey D, Maynard A, Kagan VE, Castranova V, Baron P. Unusual inflammatory and fibrogenic pulmonary responses to single-walled carbon nanotubes in mice. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol* 2005;289(5):L698-708.
- 86 - Silva VM, Corson N, Elder A, Oberdorster G. The rat ear vein model for investigating in vivo thrombogenicity of ultrafine particles (UFP). *Toxicol Sci* 2005;85(2):983-9.
- 87 - Singal M, Finkelstein JN. Amorphous silica particles promote inflammatory gene expression through the redox sensitive transcription factor, AP-1, in alveolar epithelial cells. *Exp Lung Res* 2005;31(6):581-97.
- 88 - Stearns RC, Paulauskis JD, Godleski JJ. Endocytosis of ultrafine particles by A549 cells. *Am J Respir Cell Mol Biol* 2001;24(2):108-15.
- 89 - Stone V, Tuinman M, Vamvakopoulos JE, Shaw J, Brown D, Petterson S, Faux SP, Borm P, MacNee W, Michaelangeli F, Donaldson K. Increased calcium influx in a monocytic cell line on exposure to ultrafine carbon black. *Eur Respir J* 2000;15(2):297-303.
- 90 - Takenaka S, Karg E, Roth C, Schulz H, Ziesenis A, Heinzmann U, Schramel P, Heyder J. Pulmonary and systemic distribution of inhaled ultrafine silver particles in rats. *Environ Health Perspect* 2001;109 Suppl 4:547-51.
- 91 - Takenaka S, Karg E, Kreyling WG, Lentner B, Schulz H, Ziesenis A, Schramel P, Heyder J. Fate and toxic effects of inhaled ultrafine cadmium oxide particles in the rat lung. *Inhal Toxicol* 2004;16 Suppl 1:83-92.
- 92 - Tamaoki J, Isono K, Takeyama K, Tagaya E, Nakata J, Nagai A. Ultrafine carbon black particles stimulate proliferation of human airway epithelium via EGF receptor-mediated signaling pathway. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol* 2004;287(6):L1127-33.
- 93 - Tin Tin Win S, Yamamoto S, Ahmed S, Takeyama M, Kobayashi T, Fujimaki H. Brain cytokine and chemokine mRNA expression in mice induced by intranasal instillation with ultrafine carbon black. *Toxicol Lett* 2005.
- 94 - Uchino T, Tokunaga H, Ando M, Utsumi H. Quantitative determination of OH radical generation and its cytotoxicity induced by TiO<sub>2</sub>(2)-UVA treatment. *Toxicol In Vitro* 2002;16(5):629-35.
- 95 - Utell MJ, Frampton MW. Acute health effects of ambient air pollution: the ultrafine particle hypothesis. *J Aerosol Med* 2000;13(4):355-59.
- 96 - Vertegel AA, Siegel RW, Dordick JS. Silica nanoparticle size influences the structure and enzymatic activity of adsorbed lysozyme. *Langmuir* 2004;20(16):6800-7.
- 97 - Warheit DB, Laurence BR, Reed KL, Roach DH, Reynolds GA, Webb TR. Comparative pulmonary toxicity assessment of single-wall carbon nanotubes in rats. *Toxicol Sci* 2004;77(1):117-25.
- 98 - Wilson MR, Lightbody JH, Donaldson K, Sales J, Stone V. Interactions between ultrafine particles and transition metals in vivo and in vitro. *Toxicol Appl Pharmacol* 2002;184(3):172-9.
- 99 - Wottrich R, Diabate S, Krug HF. Biological effects of ultrafine model particles in human macrophages and epithelial cells in mono- and co-culture. *Int J Hyg Environ Health* 2004;207(4):353-61.
- 100 - Yang CS, Chang CH, Tsai PJ, Chen WY, Tseng FG, Lo LW. Nanoparticle-based in vivo investigation on blood-brain barrier permeability following ischemia and reperfusion. *Anal Chem* 2004;76(15):4465-71.
- 101 - Zhang Q, Kusaka Y, Sato K, Nakakuki K, Kohyama N, Donaldson K. Differences in the extent of inflammation caused by intratracheal exposure to three ultrafine metals: role of free radicals. *J Toxicol Environ Health A* 1998;53(6):423-38.
- 102 - Zhou YM, Zhong CY, Kennedy IM, Pinkerton KE. Pulmonary responses of acute exposure to ultrafine iron particles in healthy adult rats. *Environ Toxicol* 2003;18(4):227-35.
- 103 - Zhou YM, Zhong CY, Kennedy IM, Leppert VJ, Pinkerton KE. Oxidative stress and NFkappaB activation in the lungs of rats: a synergistic interaction between soot and iron particles. *Toxicol Appl Pharmacol* 2003;190(2):157-69.

## Annexe III-2 : Etudes expérimentales en écotoxicologie

Tableau 8 : Synthèse des études écotoxicologiques en fonction des catégories de nanoparticules et des espèces testées

| Nanoparticules                                                     | Espèces testées                                                                                                          | Références                                                                                                                       |
|--------------------------------------------------------------------|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| Fullerènes n C <sub>60</sub>                                       | <i>Escherichia coli</i> , <i>Bacillus subtilis</i><br><i>Daphnia magna</i><br><br>Poisson : <i>Micropterus salmoïdes</i> | Fortner et al., 2005<br>Rice University<br><a href="http://www.nanotox.info">http://www.nanotox.info</a><br>Oberdörster E., 2004 |
| NTCSP (1)                                                          | Copépode estuarien : <i>Amphiascus tenuiremis</i>                                                                        | Templeton et al., 2005                                                                                                           |
| NTCSP (1)<br>TiO <sub>2</sub><br>Nanocomposite<br>photocatalytique | <i>Bacillus cereus</i> (endospores)                                                                                      | Lee et al., 2005                                                                                                                 |
| Alumine                                                            | Maïs, soja, concombre, choux, carotte                                                                                    | Yang L. & Watts D.J., 2005                                                                                                       |
| NTCMC (2)<br>Ag, NiO, TiO <sub>2</sub>                             | Macrophages                                                                                                              | Soto K. F. et al., 2005                                                                                                          |

- (1) Nano Tube de Carbone Simple Paroi  
(2) Nano Tube de Carbone Multi Couches

### RÉFÉRENCES DES ÉTUDES ÉCOTOXICOLOGIQUES

- Fortner D. et al. (2005) C<sub>60</sub> in water: nanocrystal formation and microbial response. Environ. Sci. Technol., 39, 4307-4316.  
<http://www.nanotox.info>
- Oberdörster E. (2004). Manufactured nanomaterials (fullerenes, C<sub>60</sub>) induce oxidative stress in the brain of juvenile largemouth bass. Environmental Health perspectives. 112, 10: 1058-1062.
- Templeton et al. (2005). Lifecycle effects of bulk and purified carbon nanotubes on an estuarine meiobenthic copepod.  
<http://www.abstracts.co.allenpress.com/pweb/setac2005>
- Lee S-H, Pumprueg S., Moudgil B. et Sigmund W. (2005) Inactivation of bacterial endospores by catalytic nanocomposites. Colloids and surfaces B : Biointerfaces. 40, 93-98.
- Yang L. & Watts D.J. (2005). Particle surface characteristics may play an important role in phytotoxicity of alumina nanoparticles. Toxicology letters. 158, 2, 122-132.
- Soto K. F., Carrasco A., Powell T. G., Murr L. E. et Garza K. M. (2005). Biological effects of nanoparticulate materials. Materials Science and Engineering. 7 pages.

## ANNEXE IV : GESTION DES RISQUES PROFESSIONNELS

*La présente annexe précise les points exposés dans la Section 2 du Chapitre 3*

### 1. Séparation des zones propres et des zones sales

Les zones susceptibles d'exposer à des nanoparticules en aérosol doivent être clairement identifiées, et séparées des zones propres. Le passage des unes aux autres doit comporter les installations nécessaires au changement d'équipement en sécurité.

Les matières premières et produits susceptibles de mettre en circulation des nanoparticules doivent être conditionnés dans des contenants fermés en dehors des zones d'utilisation.

Les matériels, contenants, filtres, parties d'installations, équipements, vêtements contaminés doivent être sortis des zones de production dans des sacs fermés, étiquetés, et traités dans des installations appropriées.

### 2. Equipements individuels de protection

Lorsque la conception des installations ne permet pas d'isoler totalement les travailleurs par rapport au produit, et pour les situations de maintenance ou de nettoyage, il est nécessaire de fournir des équipements de protection individuelle appropriés.

- La prévention des risques d'exposition cutanée passe par :
  - l'identification de matériaux de fabrication des gants et vêtements de travail ne présentant pas de risque de pénétration ;
  - le traitement du risque de contamination au moment du déshabillage, ou de l'habillage ;
  - la reconception des tâches pour lesquelles les gants ne permettent pas la dextérité requise, et où les travailleurs peuvent être tentés de les retirer.
- La prévention des risques d'ingestion passe classiquement par l'interdiction de manger et de boire dans les locaux. Elle suppose que les travailleurs puissent s'hydrater régulièrement en dehors de ceux-ci, d'autant plus qu'ils font des efforts importants ou travaillent à la chaleur.
- Concernant le risque d'inhalation, compte tenu des spécificités des nanoparticules, la mise au point et le choix des équipements de protection devront intégrer les connaissances acquises dans les domaines de l'exposition aux particules toxiques, l'exploitation des installations nucléaires, le retrait d'amiante, l'exposition aux risques biologiques.

La taille des nanoparticules fait qu'elles sont facilement filtrées par les filtres à particules, mais il est indispensable de tenir compte aussi du fait que leurs aérosols se comportent comme des gaz. Lorsque l'on utilise des masques ou demi-masques filtrants sans adduction d'air, une forte ventilation pulmonaire due à des efforts importants, à un travail à la chaleur, ou l'encrassement du filtre, peut aboutir à la mise en dépression du masque, et à des fuites au niveau des joues. Sur les postes où l'exposition est importante, et/ou où il existe des efforts élevés, des dispositifs assurant une légère surpression permanente par rapport à l'environnement semblent plus appropriés, tels que cagoules ventilées ou, pour les situations les plus exposées, tenues étanches ventilées. Cependant, ces systèmes impliquent la présence d'un tuyau d'adduction d'air, qui entrave les déplacements. La conception des dispositifs et des installations, et l'organisation du travail, doivent permettre un branchement à proximité de la zone de travail. Dans le cas de la tenue étanche ventilée, une aide au déshabillage est indispensable.

Les tenues étanches non ventilées peuvent conduire à un effet de serre, empêchant le refroidissement par la sudation, et entraînant une augmentation de la température interne et de la fréquence cardiaque, notamment dans le cas d'efforts importants ou d'un environnement chaud. La durée de port doit alors être limitée (selon le niveau de métabolisme), et suivie d'une pause prise sans la tenue étanche<sup>6</sup>.

<sup>6</sup> - Meyer,J-P, 1997, Astreinte physiologique lors d'opérations de retrait d'amiante, DMT 69TL 21, 19-26.

## **ANNEXE V : POUR EN SAVOIR PLUS... SUR INTERNET**

*Quelques adresses de sites accessibles en mai 2006*

### **Impacts sanitaires et environnementaux des nanotechnologies**

<http://icon.rice.edu>

<http://www.nanomateriauxetsecurite.fr>

<http://www.nanosafe.org/>

<http://www.nanotox.info>

### **Applications des nanotechnologies**

<http://www.nano.org.uk/forum/>

<http://www.nanomicroclub.com/>

<http://www.nanotechproject.com/>

<http://www.azonano.com/Applications.asp>

### **Aspects sociétaux et nanotechnologies**

<http://www.nanodialogues.org/international.php>

<http://www.nanoforum.org/>

<http://www.royalsoc.ac.uk/nano-technology>

<http://www.hfsp.org/>

<http://www.vivagora.org>

### **Compétences en France dans le domaine des nanotechnologies**

<http://www.nanomateriaux.org>

<http://www.nanomat.fr>

<http://www.nanomicro.recherche.gouv.fr/>

### **Compétences en Europe**

<http://www.cordis.lu/nanotechnology/>

[http://europa.eu.int/comm/research/leaflets/nanotechnology/index\\_fr.html](http://europa.eu.int/comm/research/leaflets/nanotechnology/index_fr.html)

<http://www.minanet.com/>

<http://www.nanotec.org.uk/index.htm>

<http://www.nanoscience.cam.ac.uk/centre/index.html>

### **Compétences aux USA et au Japon**

<http://www.nano.gov/>

<http://unit.aist.go.jp/nanotech/>

### **Liste des congrès internationaux sur les nanotechnologies**

<http://www.metallurgy.nist.gov/magnet/shull/nanomeet.htm>