

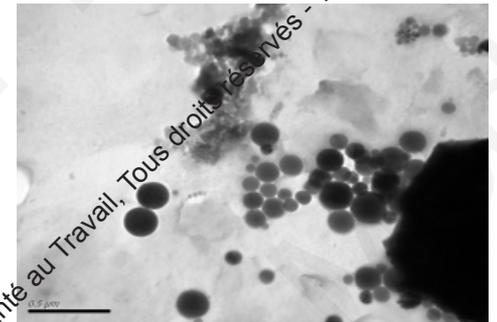
# Atelier : Nanomatériaux manufacturés : repérer et caractériser les expositions professionnelles et prévenir les risques pour la santé en milieu de travail

**Etat des lieux  
des dernières connaissances scientifiques et médicales  
sur les principaux effets actuellement connus sur la santé humaine  
des nanomatériaux**

**Pr Pascal ANDUJAR**

CHI Créteil

Service de Pathologies professionnelles et de l'Environnement



**institutmondor**  
de recherche biomédicale



**Inserm**

Institut national  
de la santé et de la recherche médicale

**UPEC**  
Connaissance - Action

UNIVERSITÉ  
PARIS-EST CRÉTEIL  
VAL DE MARNE

**ist-pe**

**CHU**  
CENTRE  
HOSPITALIER  
INTERCOMMUNAL  
CRÉTEIL

# Effets toxicologiques connus des nanomatériaux (NM)

- Essentiellement des études expérimentales *in vitro* et *in vivo* chez l'animal +++
- Très peu d'études chez l'Homme
- Effets toxicologiques variables selon divers déterminants :



Quels sont les déterminants des effets toxicologiques des NM ?

# Déterminants des effets toxicologiques des NM ?

- **Facteurs liés à l'organisme exposé**

- Susceptibilité individuel: organisme sain vs malade
- Interaction des NM avec les constituants de l'organisme

- **Facteurs liés à l'exposition**

- Sources : aérosols particulaires ou liquides
- Intensité de l'exposition => **dose employée => métrique ?**

2018 © Congrès National de Médecine et Santé au Travail, Tous droits réservés - Toute reproduction même partielle est formellement interdite.

2018 © Congrès National de Médecine et Santé au Travail, Tous droits réservés - Toute reproduction même partielle est formellement interdite.

# Problématique de l'expression de la dose

Nombre de particules et surfaces de particules pour une concentration massique de 10 µg de particules par m<sup>3</sup> d'air

**10 µg / m<sup>3</sup> d'air**

	Diamètre d'une particule (µm)	Nombre de particules/mL d'air	Aire des particules (µm <sup>2</sup> /mL d'air)
<b>Particules fines</b>	2	2	30
	0.5	153	120
	0.02 = 20 nm	2,390,000	3000

**NM**

**x 10<sup>6</sup>**

**x 100**

**Concentrations en nombre**

**Concentrations en surface disponible**

↑↑ **Contact avec les surfaces biologiques +++**

# Déterminants des effets toxicologiques des NM ?

- **Facteurs liés à l'organisme exposé**

- Susceptibilité individuel: organisme sain vs malade
- Interaction des NM avec les constituants de l'organisme

- **Facteurs liés à l'exposition**

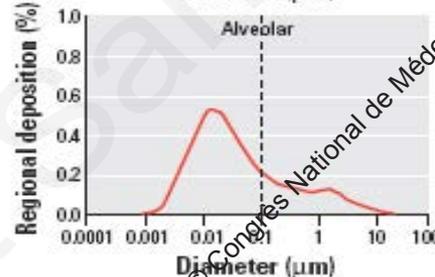
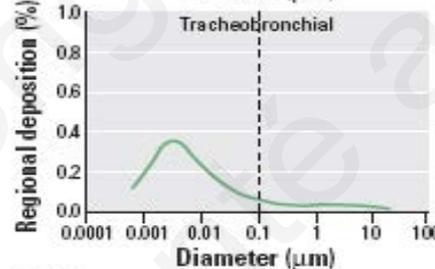
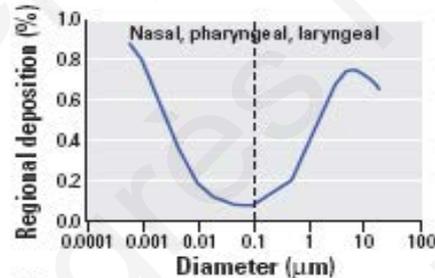
- Sources : aérosols particulaires ou liquides
- Intensité de l'exposition => dose employée => métrique ?
- Durée de l'exposition
- Co-expositions
- Voie d'exposition** : respiratoire +++, cutanée et digestive

2018 © Congrès National de Médecine et Santé au Travail, Tous droits réservés - Toute reproduction même partielle est formellement interdite.

# Déposition respiratoire selon la taille

## • Voie respiratoire +++

Passage vers le Système nerveux central ?



Elle dépend notamment :

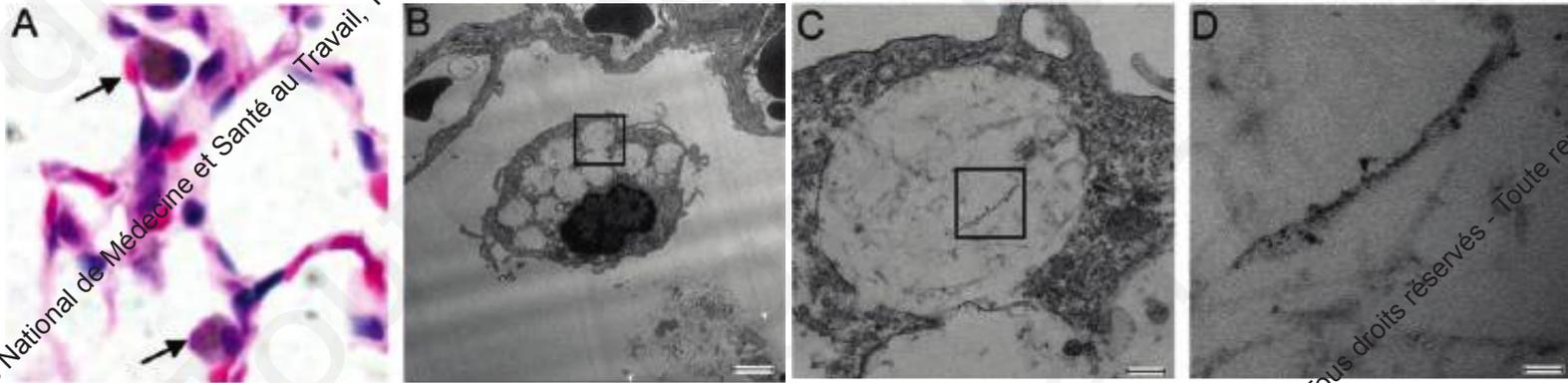
- taille
- forme
- anatomie des voies aériennes
- mode ventilatoire

Translocation systémique ?

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

# Internalisation dans les macrophages

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

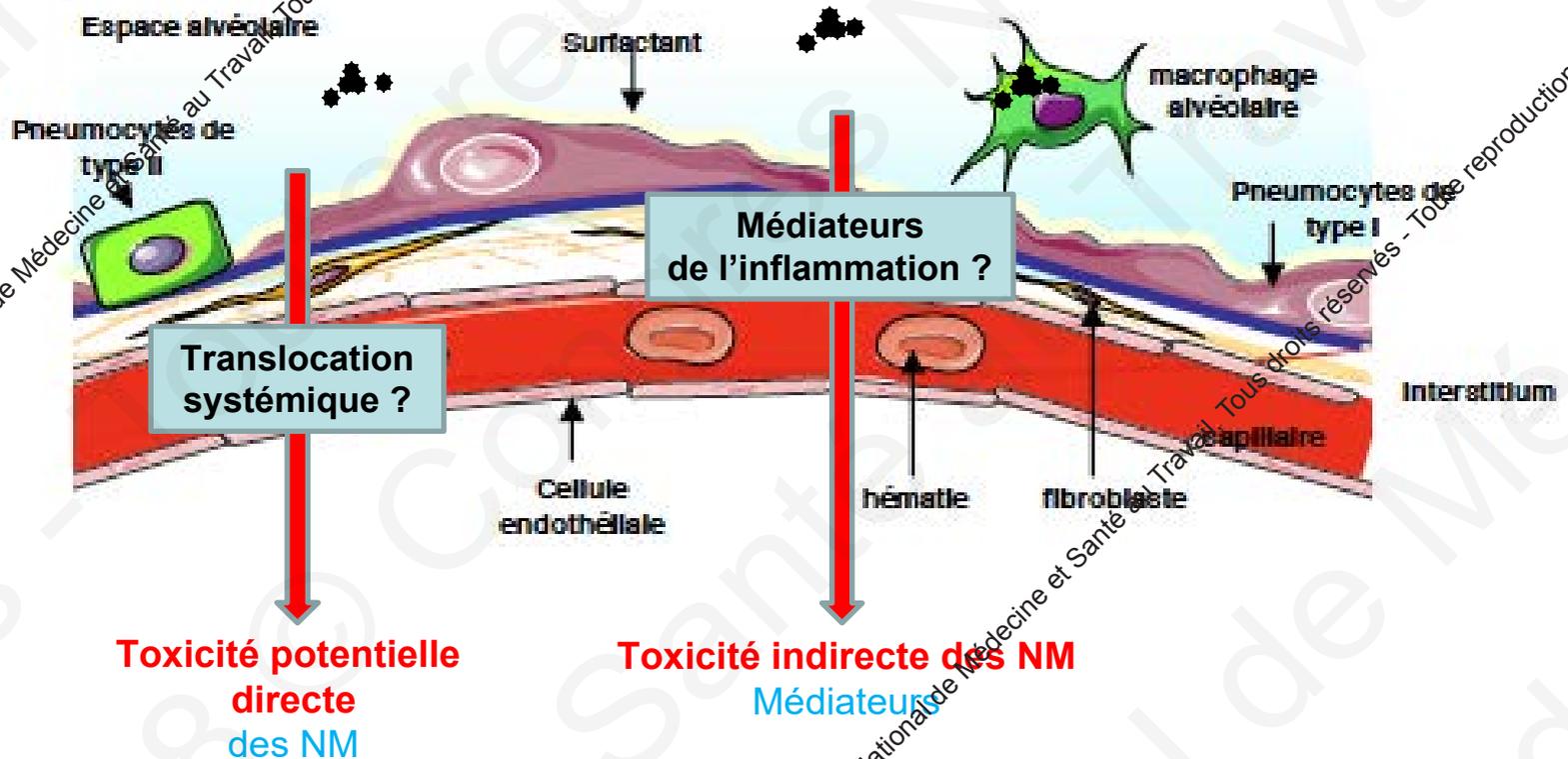


Les nanotubes de carbone (NTC ou NC) peuvent être **internalisés par les** macrophages alvéolaires *in vivo* chez l'animal.

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

# Effets locaux et systémiques des NM?

## Effets locaux pulmonaires directs et indirectes des NM



## Effets systémiques potentiels

# Translocation systémique des NM ?

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

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

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

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



Passage systémique des NM

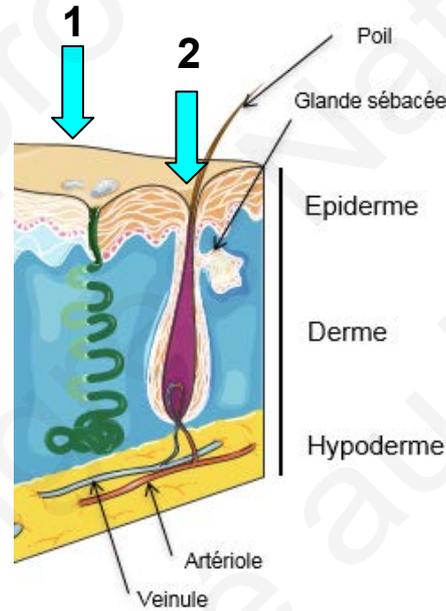
La cinétique et la localisation diffèrent en fonction de leur taille

# Autres voies de pénétration potentielles

- **Voie cutanée**

1. **Voie transépidermique**

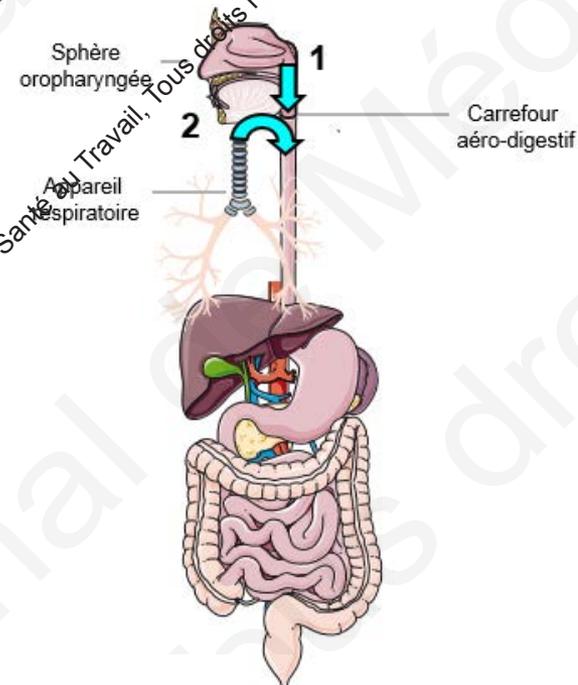
2. **Voie pilo-sébacée**



- **Voie digestive (population générale +++)**

3. **Ingestion directe de NM**

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



# Déterminants des effets toxicologiques des NM ?

- **Facteurs liés à l'organisme exposé**

- Susceptibilité individuel: organisme sain vs malade
- Interaction des NM avec les constituants de l'organisme
- 

- **Facteurs liés à l'exposition**

- Sources : aérosols particulaires ou liquides
- Intensité de l'exposition => dose employée => métrique ?
- Durée de l'exposition
- Co-expositions
- Voie d'exposition : cutanée, digestive et respiratoire +++

- **Facteurs liés aux caractéristiques physico-chimiques des NM**

# Déterminants des effets toxicologiques des NM ?

## Caractéristiques physico-chimiques



Taille

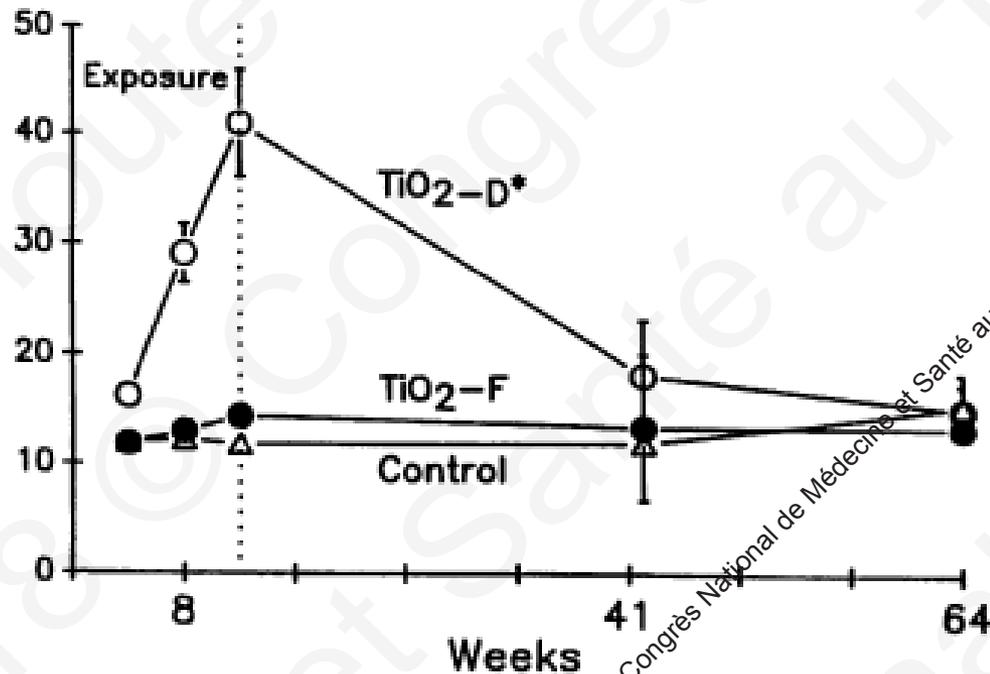
2018 © Congrès National de Médecine et Santé au Travail, Tous droits réservés - Toute reproduction même partielle est formellement interdite.

2018 © Congrès National de Médecine et Santé au Travail, Tous droits réservés - Toute reproduction même partielle est formellement interdite.

# Leur **taille** conditionne leur propriété inflammatoire

Particules de  $\text{TiO}_2$  (20 - 250 nm) administrées par inhalation pendant 12 semaines chez des rats -  $20 \text{ mg/m}^3$ , 6h/jour, 5 jours/semaine

**Cellularité  
inflammatoire  
totale**  
dans le liquide de  
lavage broncho-  
alvéolaire (LLBA)  
( $\times 10^6$  cellules/mL)



# Déterminants des effets toxicologiques des NM ?

## Caractéristiques physico-chimiques



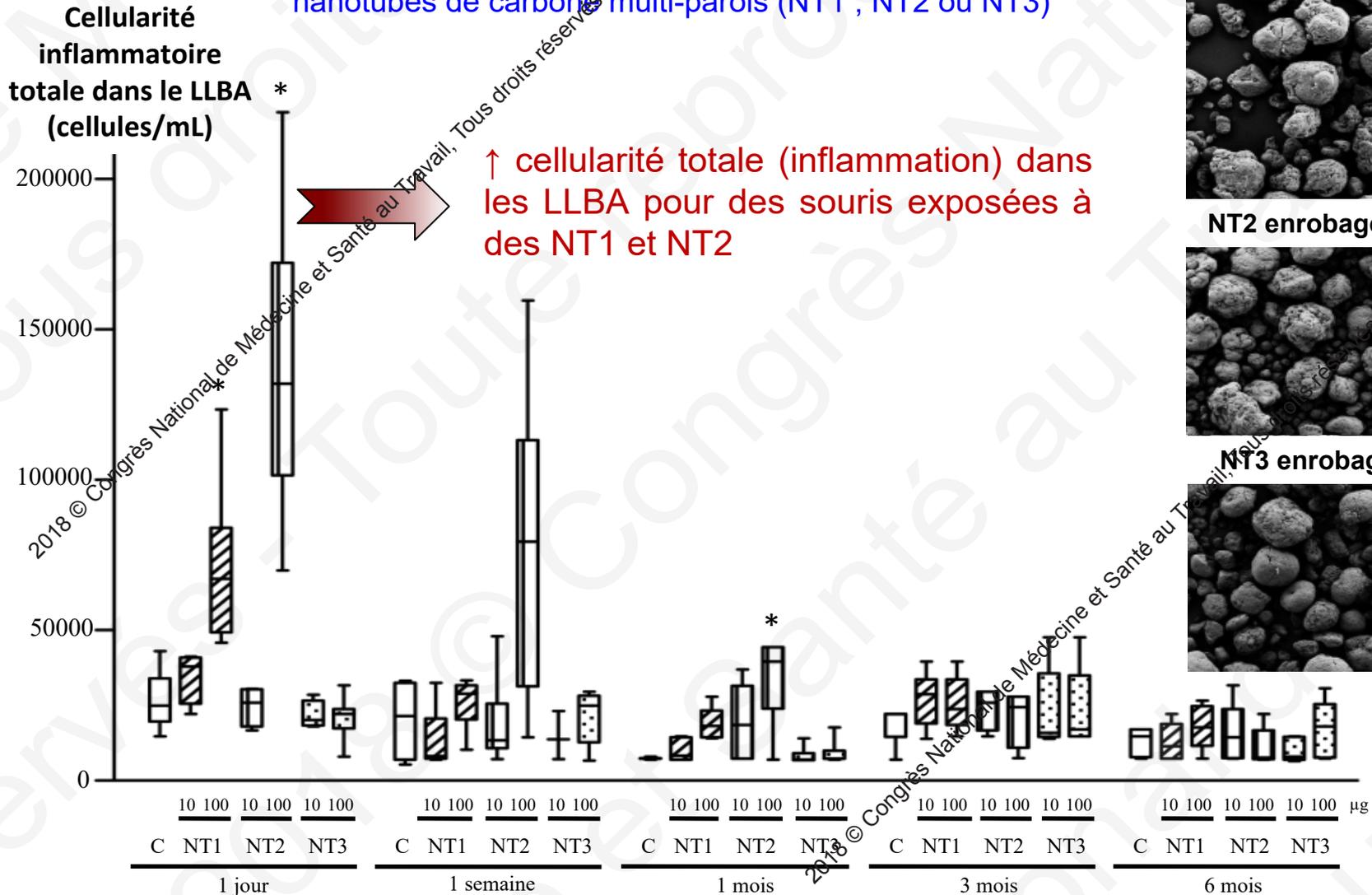
Taille



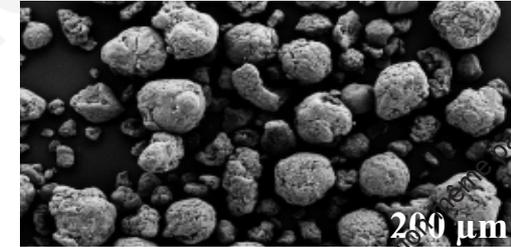
Aire et  
réactivité de  
surface

# La réactivité de surface impacte leur propriété inflammatoire

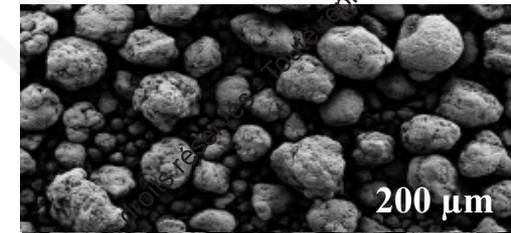
Souris exposées par voie intratrachéale à 10 ou 100 µg de nanotubes de carbone multi-parois (NT1 ; NT2 ou NT3)



NT1 sans enrobage



NT2 enrobage polymère acide

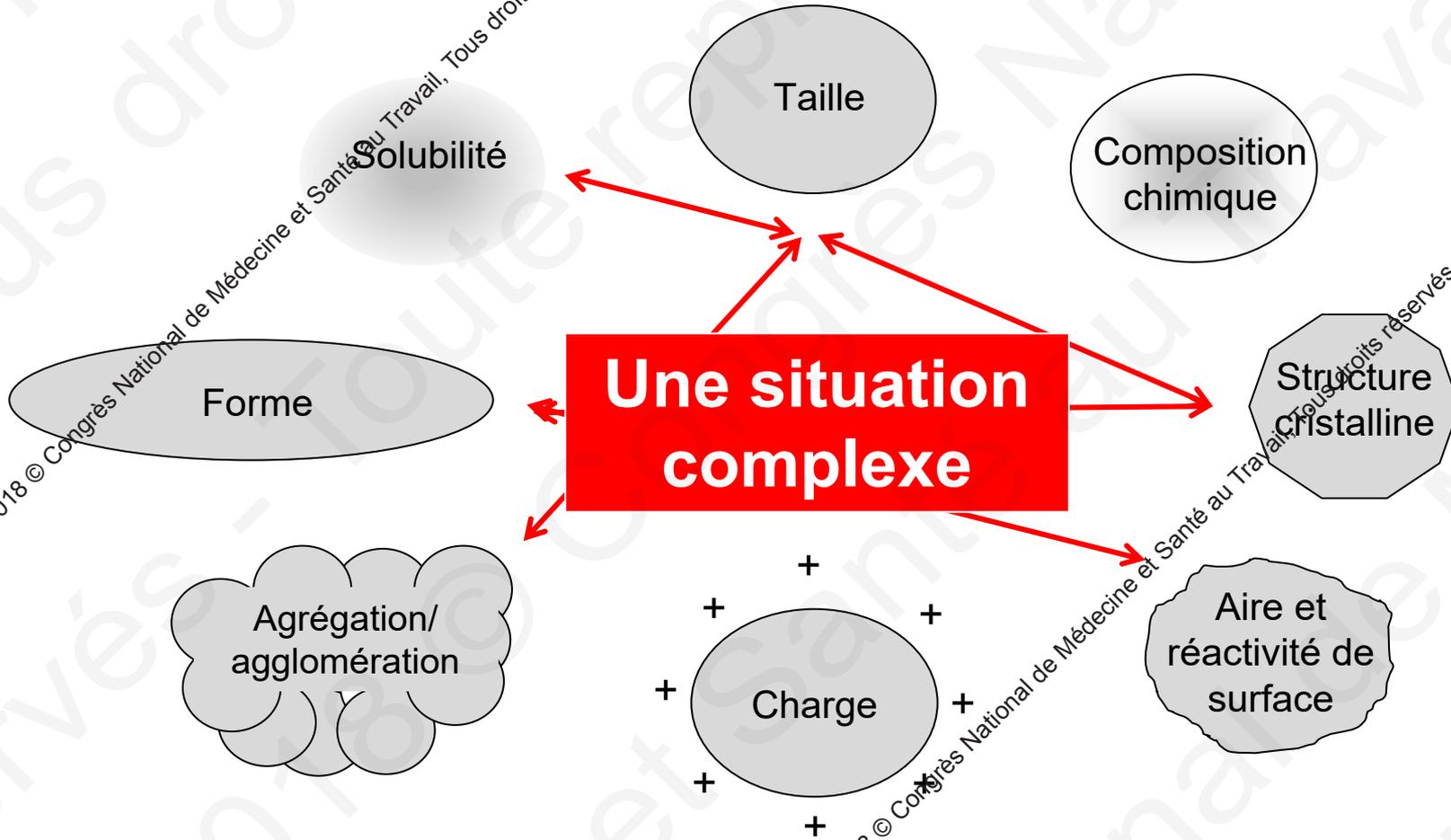


NT3 enrobage polystyrène



# Déterminants des effets toxicologiques des NM ?

## Caractéristiques physico-chimiques



# Mécanismes d'interaction des NM avec le vivant pouvant conduire à la toxicité

Génération de formes réactives de l'oxygène

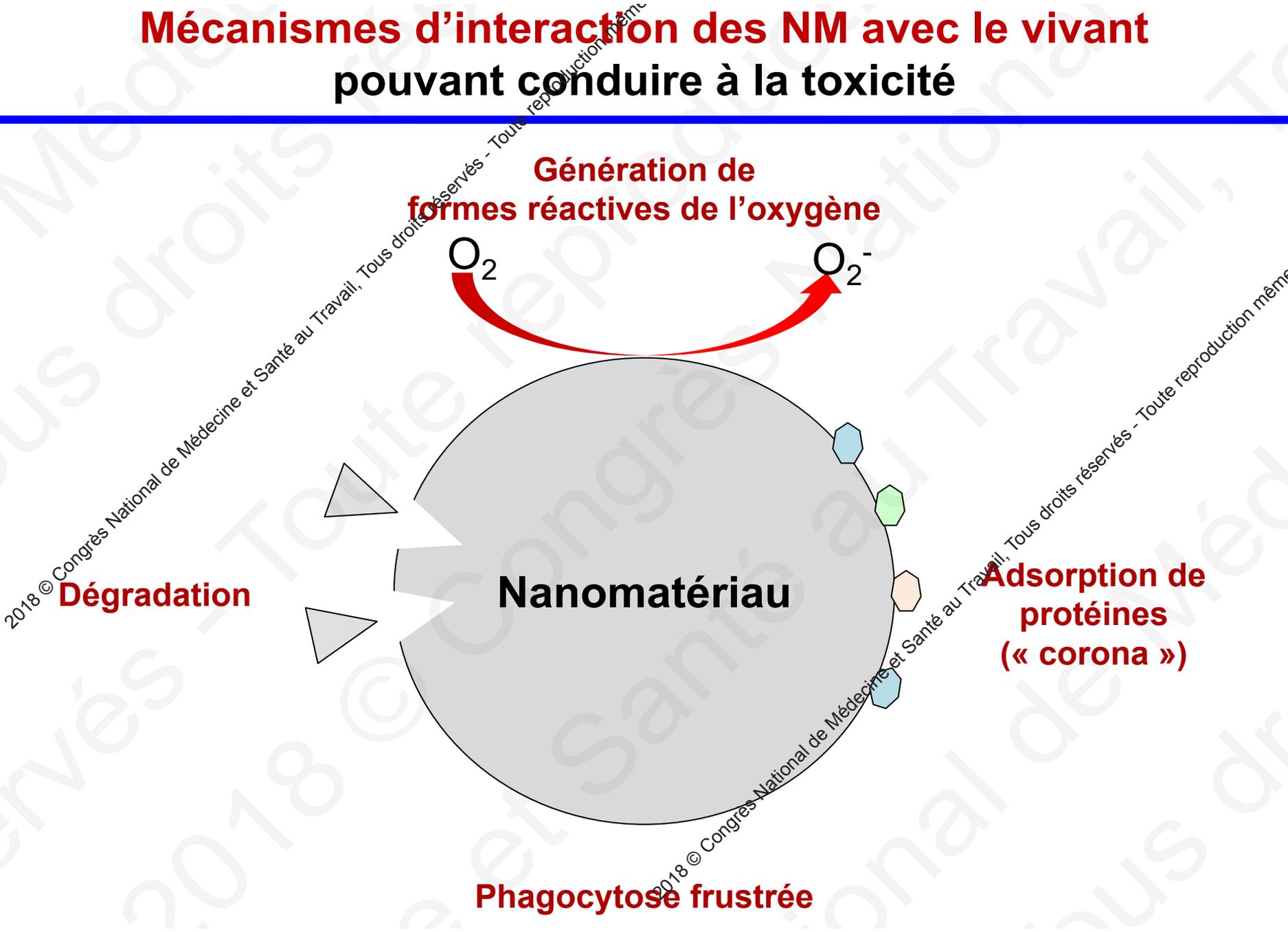


Nanomatériau

Dégradation

Adsorption de protéines (« corona »)

Phagocytose frustrée



# Déterminants des effets toxicologiques des NM ?

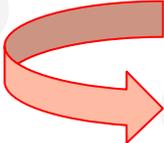
- **Facteurs liés à l'organisme exposé**

- Susceptibilité individuel: organisme sain vs malade
- Interaction des NM avec les constituants de l'organisme
- 

- **Facteurs liés à l'exposition**

- Sources : aérosols particulaires ou liquides
- Intensité de l'exposition => dose employée => métrique ?
- Durée de l'exposition
- Co-expositions
- Voie d'exposition : cutanée, digestive et respiratoire +++

- **Facteurs liés aux caractéristiques physico-chimiques des NM**



Quels sont les **effets toxicologiques connus** des NM ?

# Effets toxicologiques observés chez l'animal

M. Ema et al. *Regulatory Toxicology and Pharmacology* 74 (2016) 42–63

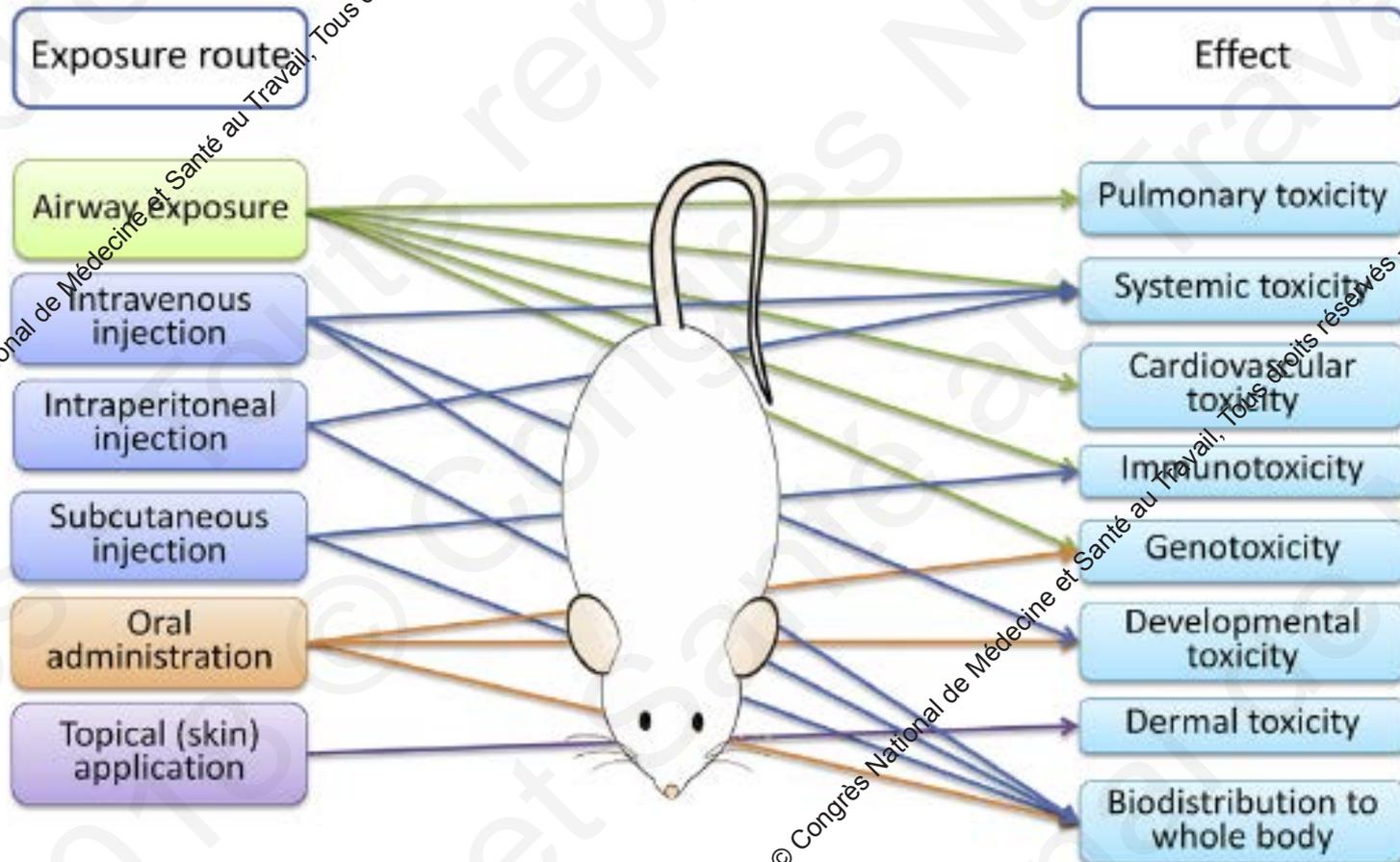


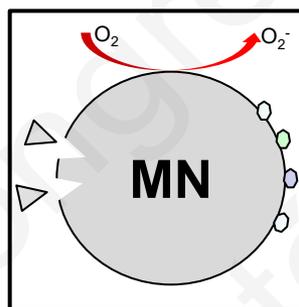
Fig. 1. Exposure route and effect of SWCNTs in animal studies reported in the literature.

# Effets toxicologiques des NM

Développer une approche « safe by design » pour produire des NM utiles et sûrs



## Mécanismes d'interaction des NM avec le vivant pouvant conduire à la toxicité



Inflammation

Génotoxicité

Cytotoxicité

Stress oxydant

Altération

molécules endogènes



**Cancérogénèse**

cancer bronchique ?  
mésothéliome ?

CIRC (groupe 2B) :

TiO<sub>2</sub> et NTC de type MWCNT-7

**Remodelage tissulaire**

Fibrose pulmonaire  
Athérome / thrombose  
Trouble du rythme

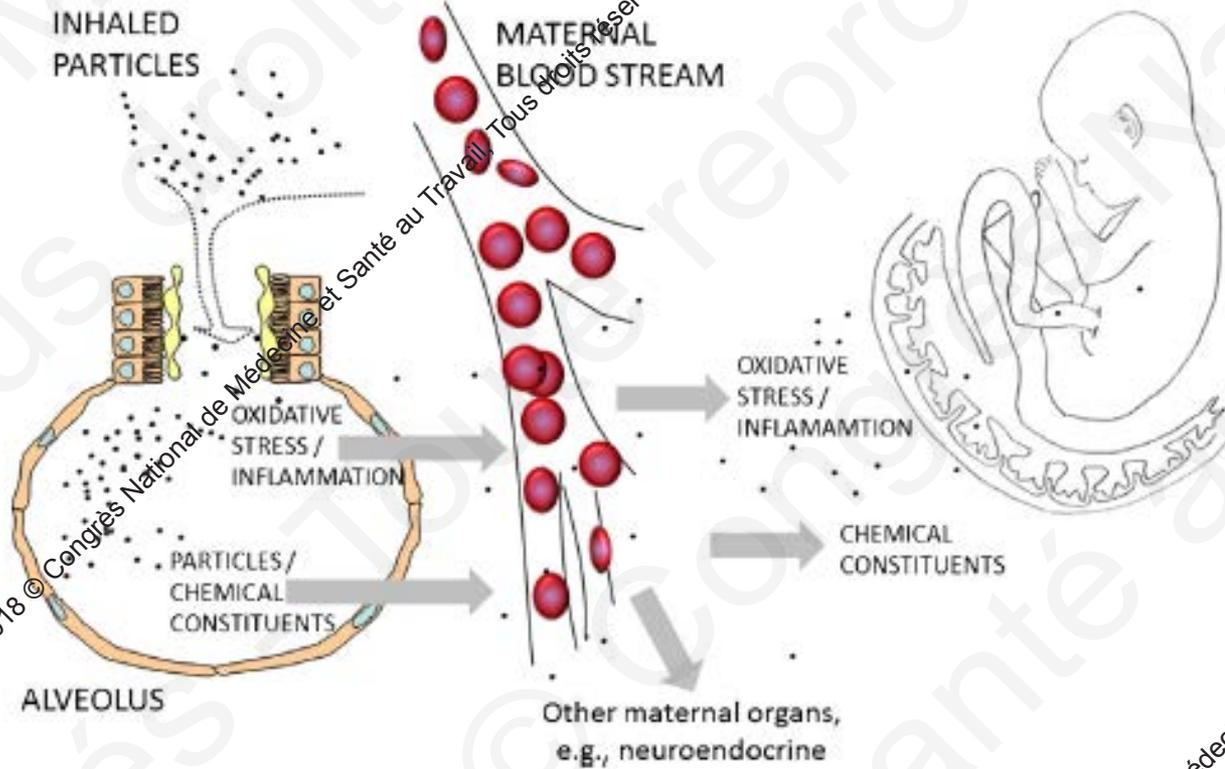
**Système immunitaire**

Effet immunomodulateur

**Reproduction**

# Reprotoxicité chez l'animal

K.S. Hougaard et al. / Reproductive Toxicology 56 (2015) 118-140



## Données expérimentales chez l'animal

- $\text{SiO}_2$ ,  $\text{TiO}_2$ ,  $\text{ZnO}$ ,  $\text{CeO}_2$ ,
- $\text{Ag}$ ,  $\text{Cu}$ ,  $\text{Ni}$ ,  $\text{Fe}$ ,
- Polystyrène
- Noir de carbone
- Nanotubes de carbone.

- Passage et anomalies gamètes
- Passage transplacentaire et anomalies placentaires
- Passage dans le lait maternel
- Malformations fœtales
- Anomalies du développement pulmonaire, sexuel, neurologique et immunologique

# Effets suspectés sur la santé humaine des NM

**Etudes expérimentales in vitro >> in vivo chez l'animal positives avec les nanomatériaux +++**

**MAIS :**

- **Faible nombre d'études**
- **Différents types de NP employées** (TiO<sub>2</sub>, SiO<sub>2</sub>, Nanotubes de carbone, etc)
- **Peu de caractérisation physico-chimique des NP employées** : composition chimique, taille, forme (fibre ou non), nombre, charge électrique, structure cristalline, agrégabilité/agglomération, métaux/molécules adsorbées, présence de défauts, phénomène de surface (revêtement/coating), photoréactivité, granulométrie, vieillissement, etc
- **Pureté des échantillons de NP** : catalyseurs, endotoxines, etc
- **Problème des doses employées ?** dose réaliste ? unité employée (massique/ surfacique, en nombre... ) ?
- **Effets aigus > chroniques (inflammation, stress oxydatif, génotoxicité, fibrose, etc)**

**DONC : Grande prudence dans l'interprétation des études en nanotoxicologie**

**1 NP donnée dans un contexte  
(composition chimique, taille,  
mode de fabrication, etc**

**Effet in vitro ou  
in vivo  
chez l'animal**

**Risque sanitaire  
émergent ?  
Extrapolation à  
l'Homme ?**

**Principe de  
précaution**

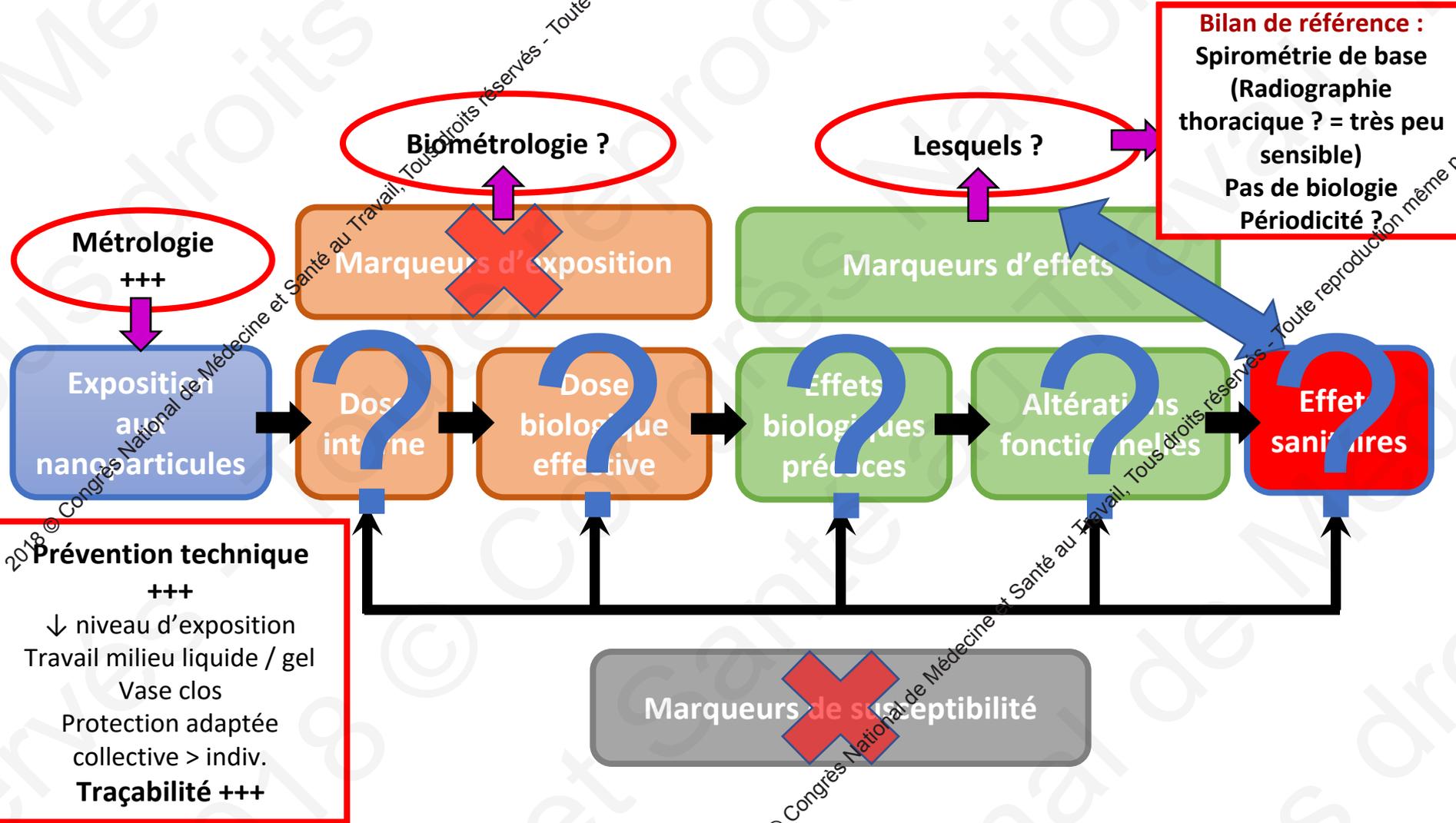
**Quid  
Surveillance  
médicale?**



# Exemples de stratégies de surveillance médicale proposées

	<i>National Institute of Occupational Safety and Health (NIOSH - USA)</i>	Schweizerische Unfallversicherungsanstalt (SUVA – Suisse)	Institut National de Recherche et Sécurité (INRS - France)
<b>Bilan de référence</b>  <b>Aide à l'aptitude</b>  <b>Port d'équipement de protection individuel</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>▪ Radiographie de thorax (RT)</li> <li>▪ Exploration fonctionnelle respiratoire (EFR)</li> <li>▪ Recherche d'allergies</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>▪ RT</li> <li>▪ EFR</li> <li>▪ Anamnèse ciblée</li> <li>▪ Examen clinique</li> <li>▪ Analyses biologiques (NFS, marqueurs rénaux et hépatiques,...)                             <ul style="list-style-type: none"> <li>▪ ECG</li> </ul> </li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>▪ RT</li> <li>▪ EFR</li> </ul>
<b>Suivi périodique</b> <b>Périodicité ?</b>	Idem + Autres en fonction du poste	Idem + ECG / RT en alternance	Idem
<b>Suivi Epidémiologique</b> <b>Uniquement</b>			Idem + <b>Holter cardiaque</b> <b>Oxymétrie d'effort</b> <b>NFS et paramètres de la coagulation et de l'inflammation</b>

# Stratégie de surveillance médicale des travailleurs exposés sur le terrain



**Prévention technique**  
+++  
↓ niveau d'exposition  
Travail milieu liquide / gel  
Vase clos  
Protection adaptée collective > indiv.  
**Traçabilité +++**

**Bilan de référence :**  
Spirométrie de base  
(Radiographie thoracique ? = très peu sensible)  
Pas de biologie  
Périodicité ?

**Marqueurs de susceptibilité**

2018 © Congrès National de Médecine et Santé au Travail, Tous droits réservés - Toute reproduction même partielle est formellement interdite.

## En résumé

- Il convient donc d'adopter une **approche de précaution en équipe pluridisciplinaire +++**
- **Evaluation des risques**
  - **Identification** du nanomatériau ou de la nanoparticule
  - **Caractérisation physico-chimique**
  - **Connaissances toxicologiques** : Bon niveau d'information sur les modèles expérimentaux utilisant des NM => effets toxiques démontrés versus très peu de données chez l'Homme
- **Prévention technique, notamment :**
  - **Information / formation**
  - **Niveau d'exposition => principe ALARA** « As Low As Reasonably Achievable »
  - **Métrologie +++**
  - **Equipements de protection collectif et individuels adaptés (Protection respiratoire, cutanée,...)**
- **Prévention médicale => Modalités du suivi médical**
  - **Pas de consensus +++ à adapter en fonction des connaissances toxicologiques de la NP en question**
  - **Spirométrie au cas par cas (Bilan de référence, port EPI, ...)**
  - **Pas de biométrie (peu sensible et peu spécifique) => recherche +++**
  - **Eviction de la femme enceinte**
  - **Traçabilité +++**
    - **Fiche individuelle d'exposition / Dossier médical**

# Remerciements

## Partenaires financiers :



## Equipe 4 - Unité Inserm U955 Créteil Membre du LABEX SERENADE et EQUIPEX NanoID

Dir : Lanone S. et Boczkowski J.

Groupes Nanotoxicologie  
LANONE Sophie  
BOCZKOWSKI Jorge  
PAIRON Jean-Claude  
ANDUJAR Pascal



## Institut Santé Travail Paris-Est

Dir : Pairon JC

ANDUJAR Pascal  
CHOUAID Christos  
EL YAMANI Mounia  
LASFARGUES Gérard  
DUGUET Emmanuel  
BELHACEL Milia  
SERGENT Elise  
TISON Léna



## Collaborations

Laboratoire de Chimie des Matériaux Condensés

Collège de France - Université Pierre et Marie Curie, Paris

DURUPHTY Olivier



Laboratoire de Physique des Solides, Orsay

FAYARD Barbara  
DOUCET Jean



2018 © Congrès National de Médecine et Santé au Travail, Tous droits réservés - Toute reproduction même partielle est formellement interdite.