

Nanoparticules : principales données toxicologiques actuelles

B. Hervé-Bazin, chargé de mission à la Direction scientifique, INRS Vandoeuvre

Introduction

L'épidémiologie a établi que la pollution atmosphérique peut aggraver ou provoquer des maladies, voire tuer. Les données sont nombreuses, d'origines multiples et apparemment convergentes, mais leur interprétation en termes d'agents causaux et de mécanismes toxicologiques laisse place à de nombreux débats. L'un des constituants de la pollution répétitivement mis en cause est l'aérosol, particulièrement urbain ou d'origine industrielle, dans lequel on distingue conventionnellement des particules grossières, fines et/ou ultra-fines.

Un aérosol ultra-fin est constitué de particules ultra-fines individuelles (dimensions inférieures à 100 nm), ou des mêmes particules, groupées en agglomérats ou agrégats ; ces derniers peuvent dépasser le micromètre. On peut donc considérer qu'un aérosol ultra-fin couvre le domaine submicronique dans son ensemble.

Par ailleurs de nombreux travaux expérimentaux, *in vitro* comme *in vivo*, ont montré que les PUF ont des propriétés physico-chimiques et toxicologiques particulières, liées notamment à leur taille et à leur surface.

On trouve des PUF en milieux professionnels, notamment chaque fois qu'intervient la chaleur (fonderie, galvanisation, soudage, découpage, traitements thermiques de surface, etc.), la combustion (cuisine, moteurs thermiques, incinération, chauffage au gaz, fumage alimentaire), ou des procédés mécaniques (usinage, ponçage, polissage...)

Il est donc nécessaire de faire un point sur les risques encourus lors de l'exposition professionnelle à des PUF et sur les mesures de prévention ou de précaution à prendre pour s'en prémunir. Le présent exposé est notamment orienté sur l'exposition professionnelle à des PUF d'espèces chimiques, essentiellement minérales, réputées peu solubles.

1 - Pénétration des PUF dans l'organisme

1.1 - Pénétration dans les poumons et clairance

Pénétration et dépôts pulmonaires

Il faut rappeler quelques caractéristiques essentielles particulières aux PUF :

- elles sont susceptibles de se déposer dans l'ensemble des voies respiratoires avec une efficacité supérieure à celle de particules plus grosses, ceci étant notamment dû au mouvement brownien. Il en résulte qu'elles sont déposées dans les voies respiratoires de façon plus homogène et en bien plus grand nombre que les particules de plus grande taille.

- ces dépôts sont d'autant plus marqués que la respiration est accusée (donc en toutes conditions impliquant un effort physique) ou la fonction pulmonaire altérée (BPCO par exemple).

- lorsqu'elles ne sont pas fortement diluées, donc généralement au voisinage de leurs sources d'émission, les PUF forment des agrégats de forte cohésion, puis des agglomérats, moins cohésifs. Les propriétés physiques de ces entités sont celles de particules plus grosses ; la pénétration et le dépôt dans les voies pulmonaires sont modifiés en conséquence.

Le dépôt total est minimal vers 300 nm ; à cette taille, les particules sont trop grosses pour que la diffusion soit importante et trop petites pour que l'impaction et la sédimentation soient sensibles. À ce minimum, la fraction déposée est de l'ordre de 10 à 20 % ; elle croît en deçà pour approcher 100 % au fur et à mesure que le diamètre diminue, en raison de la diffusion brownienne.

Clairance pulmonaire

Le mécanisme de la clairance pulmonaire dépend de l'endroit où les particules se sont déposées, voies respiratoires supérieures ou arbre trachéo-bronchique (escalator mucociliaire), ou région alvéolaire (macrophages). Le recrutement des macrophages alvéolaires augmente avec le nombre de particules déposées ; à masse égale, il est donc plus important pour les PUF. Toutefois ces dernières (< 20 nm) sont

moins efficacement phagocytées et ont donc une probabilité plus grande d'être internalisées par les cellules épithéliales puis transférées vers l'interstitium.

On a observé chez le rat une « surcharge pulmonaire », caractérisée par un ralentissement plus ou moins accusé de la clairance. Elle s'accompagne de réactions inflammatoires durables et d'une incidence accrue à terme de tumeurs pulmonaires. Ce phénomène est peu marqué voire absent dans d'autres espèces, comme la souris ou le hamster ; la question de l'extrapolation à l'homme, en particulier du risque cancérigène, n'est pas définitivement tranchée.

Une telle surcharge peut se produire avec des particules ultra-fines (Bermudez et coll., 2004). Ces dernières (< 20 nm) sont moins rapidement phagocytées par les macrophages alvéolaires que des particules fines. Elles persistent donc plus longtemps dans l'alvéole pulmonaire, peuvent être internalisées par les cellules épithéliales puis transférées vers l'interstitium. La biopersistence pulmonaire s'en trouve accrue, et par conséquent les risques d'effets à long terme.

Il a été montré *in vitro* que diverses PUF (TiO₂, noir de carbone, particules diesel, particules urbaines) causent un dysfonctionnement du cytosquelette des macrophages, entraînant une réduction de la phagocytose, ce qui peut contribuer à altérer les capacités de défense du poumon.

La clairance est encore possible par dissolution des particules, selon leur solubilité (qui dépend de la taille, de la température, de l'agitation, du pH, etc.) ; les PUF sont plus rapidement solubilisées. Le pH acide des phagolysosomes des macrophages favorise la dissolution des métaux.

1.2 - Pénétration de PUF jusqu'au cerveau

Des espèces chimiques peuvent passer de la voie nasale (dépôt de poussières dans la muqueuse olfactive) vers le cerveau, en court-circuitant la barrière hémato-encéphalique *via* le nerf olfactif, qui se trouve au contact des polluants externes dans la muqueuse olfactive.

Le cas de substances inorganiques choisies spécifiquement pour leur « insolubilité » semble avoir été peu étudié. La pénétration de nanoparticules d'or radioactif (taille 50 nm) a été mise en évidence par microscopie électronique, par plusieurs équipes et sur plusieurs espèces animales, après instillation intranasale ; une vitesse de progression dans le neurone olfactif d'environ 2,5 mm/heure a été mesurée. Des résultats plus ou moins similaires ont été obtenus par différentes équipes, avec des particules de carbone radioactif (36 nm ; rat ; transfert relativement important ; Oberdörster G. et coll., 2004), d'iridium (15 nm ou 80 nm ; transfert très faible ; Semmler et coll., 2004), de noir de carbone (14 nm ; des particules de 94 nm ne parvenaient apparemment pas au bulbe olfactif ; Shwe et coll., 2006), ou encore avec du fullérène C₆₀ en suspension aqueuse (achigan à grande bouche juvénile ; Oberdörster E., 2004).

Le passage de nanoparticules de polymères organiques insolubles a été montré à diverses reprises : latex (et, plus encore, latex revêtu de chitosan), carboxy-polystyrène ou poly(styrène divinylbenzène) ; (Eyles et coll., 2001), chitosan (Vila et coll., 2004). Certaines expérimentations mettent en évidence le rôle que peut jouer la surface sur la rapidité de la pénétration, phénomène mis à profit pour des applications médicales.

En conclusion, le passage de PUF depuis les fosses nasales jusqu'au cerveau doit être considéré comme probable, mais fortement dépendante de la nature de la particule, de ses revêtements de surface, de sa taille, de sa solubilité, et peut-être aussi de facteurs extrinsèques. Le nerf trijumeau doit également constituer une voie de passage (Hunter et Dey, 1997).

1.3 - Pénétration de PUF par la peau

La pénétration percutanée de PUF peut sembler improbable au vu des caractéristiques de la peau ; elle a été plus particulièrement étudiée pour TiO₂ et ZnO du fait de leur utilisation dans des formulations cosmétiques. Le TiO₂ des crèmes solaires est constitué de particules de 14 à 30 nm, de surfaces spécifiques de 100 à 50 m²/g, avec des revêtements de surface inorganiques et organiques.

Avec différents échantillons, TiO₂ a été observé sur la couche la plus externe du *stratum corneum* et, très occasionnellement, dans la partie supérieure du follicule pileux. Aucune particule n'a été trouvée dans la peau viable. D'autres auteurs, au contraire, estiment avoir prouvé une pénétration à travers le *stratum corneum* et même dans le *stratum granulosum*.

Le ZnO micronisé (particules de 40 à 100 nm) est généralement utilisé en complément du TiO₂. Les données disponibles pour cette espèce chimique sont relativement anciennes et ne permettent pas de conclure à sa pénétration sous forme particulaire.

Diverses particules organiques solides insolubles (quoique généralement biodégradables) ont été étudiées. Globalement, il semble qu'une certaine pénétration cutanée soit possible. En ce qui concerne des PUF proprement dites, il a été montré que des flexions cutanées répétées, normales dans une activité de travail, favorisent une pénétration en profondeur et, dans le cas de particules présentant une certaine souplesse, jusqu'à la peau viable. La démonstration semble complétée par une étude de la pénétration cutanée de nanocristaux fluorescents ("quantum dots", tailles de 4 à 12 nm) de différentes formes et revêtements de surface (Ryman-Rasmussen et coll., 2006).

Par ailleurs, il faut rappeler que les travaux sont effectués sur des peaux saines en bon état. En conditions réelles, les mains ne sont pas « idéales » ; de simples microfissures, invisibles à l'œil nu, peuvent constituer une porte de pénétration pour n'importe quel type de PUF.

2 – Quelques questions actuelles à propos des risques présentés par les PUF

2.1 - Que peut-on tirer des données environnementales ?

Les études épidémiologiques en milieux environnementaux ont des caractéristiques très différentes de celles en milieux professionnels. On peut cependant en déduire que :

- une surveillance médicale des personnes professionnellement exposées à des PUF devrait inclure – au-delà du système pulmonaire - celle du système cardiovasculaire (par exemple variabilité du rythme cardiaque, coagulabilité sanguine), et s'inquiéter du devenir des PUF ayant pénétré dans l'organisme (organes cibles ou d'accumulation, notamment poumons, mais aussi foie, reins, cerveau).
- Les personnes fragilisées, notamment cardiaques, allergiques ou atopiques devraient faire l'objet d'une attention particulière.
- Une attention plus grande ou renouvelée sera portée, en milieux professionnels, aux personnes exposées à l'ozone et/ou au dioxyde de soufre, ainsi qu'aux oxydes d'azote.
- Il existe un « effet particules ultra-fines », dont les effets peuvent être plus accusés, voire différents, de ceux de particules plus grossières de la même substance, mais aussi que la nature de la particule conserve une grande importance dans l'expression de la toxicité.

2.2 - Importance de la taille de la particule

L'efficacité de la phagocytose dépend de la taille des particules : elle est impossible pour les particules trop grosses - dimension supérieure à environ 20 µm – et moins efficace pour des particules très petites - dimension inférieure à environ 20 nm. Ainsi les particules primaires voient leur probabilité d'internalisation par les cellules du parenchyme pulmonaire augmenter.

La taille des particules joue aussi un rôle dans leurs interactions avec les protéines du milieu biologique ; plus les particules sont grosses, plus les protéines sont susceptibles d'avoir de points de fixation à leur surface, ce qui engendre des modifications de leur conformation, et parfois leur dénaturation. La tendance des particules à donner naissance à des agrégats et agglomérats, de structures relativement plus poreuses, peut donc intervenir sur leurs effets à l'échelle moléculaire.

Enfin, la toxicité des particules environnementales d'origine anthropique semble en partie inversement corrélée à leur taille, les plus petites semblant les plus nocives (cf. Gilmour et coll., 2004). Cette caractéristique transparait plus ou moins dans certaines études épidémiologiques (par exemple Dominici et coll., 2006 ; Laden et coll., 2006 ; Lanki et coll., 2006 ; Ostro et coll., 2006, parmi les plus récentes) ; elle est plus nette dans les études expérimentales, notamment *in vitro* (Shima et coll., 2006 ; Gilmour et coll., 2004 ; Donaldson et coll., 2002). Ces particules sont plus riches en éléments métalliques et en espèces chimiques organiques, susceptibles soit d'exercer une toxicité propre (Penttinen et coll., 2006 ; Kendall et coll., 2001 ; Hiura et coll., 2000) soit d'interagir avec d'autres constituants (Wilson et coll., 2002).

2.3 - Rôle de la surface

Caractéristiques générales

La composition et la réactivité de la surface d'un solide sont souvent particulières et modulées par divers facteurs dont la granulométrie, la cristallinité et les plans cristallographiques exposés, la composition et la présence de molécules adsorbées à la surface.

L'activité de la surface est liée à la présence de sites actifs (tels que ions métalliques, radicaux de surface, ou molécules organiques adsorbées), à son hydrophilie, à la présence de sites capables de former des liaisons hydrogène ou encore de réagir avec des molécules antioxydantes, à l'existence de charges superficielles (adsorption de protéines, interactions avec les membranes cellulaires...). Toute surface solide adsorbe, en fonction de sa composition et de sa topographie, des molécules environnantes ; ces dernières peuvent être ensuite déplacées par des protéines.

Il semble donc important de s'enquérir des traitements de surface appliqués et des modifications induites des caractéristiques des particules.

Hydrophilie / hydrophobie

L'hydrophilie d'un solide est un facteur clé de ses interactions avec les macromolécules biologiques. D'une façon générale, il a été mis en évidence, avec différents types de particules et de revêtements, que les particules les plus hydrophiles sont moins phagocytées par les macrophages et ont une durée de vie relativement prolongée dans la circulation générale ; inversement, les plus hydrophobes sont plus rapidement recouvertes de protéines (opsonisation) puis phagocytées.

In vivo, le statut hydrophile ou hydrophobe de la surface semble avoir peu d'incidence à court terme sur les paramètres cellulaires et biochimiques du LLBA ; les raisons n'en sont pas claires.

Forces électrostatiques

La plupart des groupes fonctionnels qui donnent un caractère hydrophile peuvent se dissocier et donner naissance à des interactions électrostatiques ou former des liaisons hydrogène (typiquement les groupements OH ou NH).

Les charges superficielles de la particule jouent un rôle dans ses interactions avec les protéines. Par exemple, l'adsorption de cations sur les groupements SiO^- de la silice conduit à une sensible diminution de son activité hémolytique.

Ces interactions sont fonction du pH, qui joue sur le degré d'ionisation des protéines. Par exemple, à pH élevé, l'adsorption est réduite en raison des forces de répulsion entre les charges négatives de la surface et celles de la protéine (groupes COO^-). Le maximum d'adsorption se produit à pH 6-7, où dominent les forces d'attraction entre les charges négatives des solides et celles positives de la protéine (groupes $-\text{NH}_3^+$), dont le point isoélectrique est proche de 7.

Une charge positive des particules semble susceptible de modifier la fonction vasculaire, comme il a été montré, après instillation intra trachéale chez le hamster, avec des PUF de polystyrène de différentes dimensions (Nemmar et coll., 2003).

Discussion

Nombre de travaux indiquent une relation entre la surface des particules et divers effets biologiques, comme inflammation pulmonaire (nombre de PMN), accroissement de la perméabilité vasculaire, ou développement de tumeurs expérimentales. La diversité des effets et des particules étudiés, ainsi que quelques divergences expérimentales, ne favorisent pas une interprétation d'ensemble.

Quelques auteurs ont ré-analysé les données d'incidence du cancer pulmonaire chez l'animal exposé à des particules fines ou ultra-fines par inhalation. S'il n'y avait pas de bonne corrélation entre la masse retenue dans le poumon et la réponse tumorale, elle était nettement améliorée lorsque la charge pulmonaire était exprimée en surface. Cependant, des incidences tumorales voisines ont été notées pour des surfaces de particules retenues différentes (TiO_2 et CB), ce qui a suscité l'hypothèse d'une désagrégation plus rapide des PUF de TiO_2 (Oberdörster, 1996). Pour ces mêmes substances, Heinrich et coll. (1995) avaient conclu que c'est la dose cumulée en masse qui est corrélée avec la formation de tumeurs. Une analyse plus récente et plus rigoureuse des mêmes données (Morfeld et coll., 2006) conclut que :

- 1) le recours aux paramètres surface ou volume des particules n'améliore pas le modèle dose-réponse par rapport à l'utilisation du paramètre masse, contrairement aux conclusions antérieures ;
- 2) la prévalence des tumeurs reste cependant plus élevée (d'un facteur de l'ordre de 1,6) pour les particules de surfaces spécifiques élevées ;
- 3) l'analyse est en faveur d'une dose-seuil pour l'induction du cancer pulmonaire (14 mg ; IC95 : 5,0-14,6 mg) ; elle indique également une « saturation » de la réponse (18 mg ; IC95 : 15,1-42,8) ;
- 4) quelle que soit la métrique, le type de particules reste un facteur prédictif important de la prévalence des tumeurs.

Il est actuellement prématuré, et dans certains cas injustifié, de considérer l'aire des particules retenues par le poumon comme un paramètre unique pour caractériser l'activité biologique des particules. Des constituants présents à la surface peuvent moduler, voire gouverner, cette activité.

2.4 - Rôle de constituants présents à la surface des particules

Ions de métaux de transition

Les particules fines et ultra-fines sont souvent riches en éléments métalliques. Or les ions des métaux de transition peuvent jouer un rôle primordial dans la production d'espèces radicalaires ; leur réactivité dépend de la typologie, de l'état d'oxydation et de l'état de coordination. Usuellement, les plus réactifs, *in vitro*, sont Fe et Cu.

Les éléments métalliques adsorbés sur les PUF peuvent exercer une toxicité locale ou systémique. Leur rôle dans la toxicité des particules environnementales est étayé par de nombreux travaux indiquant que la fraction soluble, principalement le Fe, en est responsable, au moins en partie. Il a également été montré que la fraction insoluble pouvait catalyser la formation d'EAO.

La fraction soluble obtenue en laboratoire ne reflète sans doute pas absolument celle *in vivo*.

Radicaux de surface

Des espèces radicalaires peuvent être produites en solution par l'action de radicaux présents à la surface d'une particule. Ceci a été bien mis en évidence sur des surfaces siliciques où le broyage peut provoquer la rupture homolytique de liaisons silicium-oxygène avec formation d'espèces telles que Si^\bullet , SiO^\bullet , qui peuvent à leur tour réagir. La cytotoxicité pourrait être plutôt liée à la capacité de génération d'espèces réactives qu'à l'importance de la surface disponible (Sayes et coll., 2006 ; Warheit et coll., 2006).

Composés organiques

La présence de métaux à la surface ne suffit pas toujours à expliquer la capacité des PUF à produire des espèces radicalaires (exemple du noir de carbone). Par ailleurs, plus les particules atmosphériques sont fines, plus elles sont riches en composés organiques par unité de masse.

Hydrocarbures aromatiques polycycliques (HAP)

Les HAP ont été souvent mis en cause dans la genèse de cancers pulmonaires. Pour discerner leur rôle propre, des études comparatives ont été menées entre noir de carbone à faible teneur en HAP et particules d'échappement diesel. On a observé que si du benzo[a]pyrène marqué adsorbé était partiellement et rapidement biodisponible, une majeure partie restait fortement fixée sur la particule. La fraction biodisponible peut être à l'origine de la formation d'adduits à l'ADN, mais leur taux reste très faible.

Par ailleurs, *in vivo*, les effets cancérigènes pulmonaires de ces deux types de particules sont pratiquement indiscernables, ce qui montre que le rôle des HAP n'est pas prédominant. L'effet cancérigène n'a d'ailleurs été mis en évidence qu'au-dessus d'un NOAEL évalué, chez le rat, à environ 1 mg/m^3 . Reste à déterminer si cette réponse chez le rat est spécifique de cette espèce, ou si elle est transposable à l'homme. Les questions scientifiques encore en suspens sur ce point incitent à la prudence.

Endotoxines

Des expérimentations avec des particules environnementales ont conduit à reconnaître l'implication d'endotoxines dans la genèse d'une inflammation pulmonaire chez le rat après instillation. Il est donc

nécessaire d'en tester la présence dans les échantillons et d'en évaluer les effets pour ne pas fausser l'interprétation des résultats, précaution trop souvent inappliquée.

2.5 - Quelle métrique : masse, taille, nombre, surface... ?

La masse des particules, leur taille, leur nombre, leurs propriétés de surface, leur composition chimique, leur cristallinité... tous ces facteurs peuvent jouer un rôle, mais on ne sait pas toujours bien dans quelle mesure ni de quelle manière. Tous ces paramètres ne sont pas quantifiables, mais on sait par exemple que la concentration massique n'est pas le paramètre à privilégier pour les PUF, ou que certaines techniques sont insuffisamment mûres (notamment la mesure de la surface en temps réel). Les connaissances de la diversité et de la réalité des expositions professionnelles sont très insuffisantes.

Il semble nécessaire de faire porter à court terme et en priorité un gros effort sur les techniques métrologiques, leurs avantages et inconvénients respectifs, et leurs liens avec les observations toxicologiques et/ou épidémiologiques des effets des PUF en situation d'exposition professionnelle. De tels efforts dépendent en effet la mise au point et le contrôle de l'adéquation de mesures de prévention, comme une approche mieux informée du rôle et de l'importance de paramètres physico-chimiques dans leur toxicité.

Conclusions

D'autres paramètres peuvent intervenir dans la toxicité des PUF. Il a par exemple été montré, avec différents échantillons de MnO₂, que l'amplitude de la réponse inflammatoire était fonction de la surface spécifique ; cependant, un échantillon fraîchement broyé montrait une activité comparable à celle d'un échantillon de surface spécifique très supérieure (Lison et coll., 1997).

Les données corrélant effets biologiques et différents paramètres (masse, nombre, réactivité de surface, éléments organiques, métalliques ou biologiques adsorbés) ne permettent pas de dégager un paramètre prédictif unique. L'état d'agrégation / désagrégation des particules dans les différents milieux biologiques joue, pour une masse donnée, sur les dimensions et le nombre de particules au contact des cellules. Les effets des PUF dépendent aussi des éléments adsorbés, tels que métaux, fraction organique, ou encore endotoxines, dont il est indispensable de déterminer la présence avant d'attribuer une inflammation pulmonaire à une autre cause.

La production d'EAO, en particulier de radicaux libres, est liée à la nature de la surface plutôt qu'à son aire. Les cellules elles-mêmes sont capables de produire ces molécules. D'autres paramètres, tels que la quantité de particules phagocytées et leur toxicité sont des facteurs importants de la réponse cellulaire. Vouloir faire dépendre une grande variété d'effets biologiques d'un unique paramètre, tel que la surface, serait réducteur. On ne peut non plus généraliser les conclusions obtenues avec des PUF de l'air ambiant à des nanoparticules issues de nanotechnologies, puisque leurs natures chimiques diffèrent.

3 - Quelles mesures de prévention, de précaution ?

3.1 - Protection des voies respiratoires

Du fait du rôle possible de fuites aux joints d'étanchéité avec le visage, et en l'absence de connaissances relatives à la toxicité des PUF, l'équipement de protection respiratoire recommandé est l'appareil filtrant à ventilation assistée avec masque complet, disposant d'un filtre de type P3 selon la norme NF EN 12942.

3.2 - Établissement de valeurs limites

- La définition de valeurs limites destinées à protéger la population générale d'effets sur la santé attribués au moins pour partie aux particules fines ou ultra-fines de la pollution environnementale devrait amener à faire de même pour les travailleurs professionnellement exposés à des PUF. Ces derniers sont en effet également exposés à une pollution spécifique qui peut, de plus, être significativement plus importante, et

correspondre à des polluants très différents présentant des propriétés toxicologiques plus marquées ou insuffisamment connues.

- Si les groupes à risque sont *a priori* moins fournis dans la population des travailleurs (absence de jeunes ou très jeunes, de malades, de personnes âgées), ils ne peuvent cependant être négligés (personnes allergiques, aux fonctions respiratoires diminuées, ou encore présentant des problèmes cardiovasculaires) : les personnes fragilisées sont celles qui risquent d'être les plus sensibles aux effets potentiels d'une pollution par des PUF.
- Des valeurs limites génériques pour les PUF ne régleront pas toutes les situations. On sait déjà que certains types de PUF – par exemple les nanotubes de carbone - justifieraient probablement de mesures spécifiques en raison de leurs propriétés toxicologiques particulières.
- Les problèmes de métrique et de métrologie ne sont pas suffisamment résolus pour envisager un suivi en routine des expositions professionnelles. Il ne semble pas souhaitable d'encourager à effectuer des mesurages uniquement gravimétriques pour le suivi des PUF.
Cette difficulté doit être résolue en priorité car elle conditionne l'étendue et la qualité des connaissances nécessaires à l'établissement de valeurs limites fondées sur un ensemble représentatif de données objectives et reconnues.
- Les connaissances actuelles sont suffisantes pour estimer qu'une surveillance et des mesures de prévention ou de précaution devraient être appliquées dès que possible. Des valeurs limites provisoires (VME et VLE) pourraient être rapidement envisagées, si possible définies avec une métrique moins inadaptée que la concentration pondérale.
Pour ce qui se rapporte à la concentration en nombre de particules, rappelons que le niveau moyen de la pollution urbaine en nombre de PUF est de l'ordre de 1.10^4 à 5.10^4 cm^{-3} (pour environ $1 \mu\text{g}/\text{m}^3$), un pic correspond à environ 3.10^5 cm^{-3} , mais peut atteindre 10^6 cm^{-3} en présence de circulation automobile.

Par ailleurs, mesurer les particules en nombre ou en surface ne peut tenir compte de leurs toxicités intrinsèques ou de la variabilité de leurs propriétés de surface. De plus, les PUF environnementales sont aussi présentes sur les lieux de travail, et rendent plus complexe encore le suivi et l'interprétation des données. Il n'est actuellement pas possible de tenir compte spécifiquement de ce qui provient des différentes sources.

La période de recherche et de mise au point qui devrait être entreprise entraînera des évolutions, actuellement peu prévisibles. Il ne paraît pourtant pas sensé d'attendre que toutes les questions soient réglées pour prendre des dispositions de prévention alors que le risque est avéré.

4 - Quelles pistes de recherche ?

La part des efforts consacrés à l'étude des effets potentiels des nanoparticules sur la santé, budgétairement de l'ordre de 4 % aux États-Unis, est notoirement insuffisante. Ceci pourrait avoir pour conséquence de constater tardivement des effets dont le coût de prise en charge pourrait largement dépasser les économies momentanées réalisées et entraîner un rejet sociétal dommageable à tous.

Des efforts nettement plus significatifs doivent être entrepris aussi bien dans le domaine métrologique que dans celui des effets biologiques, ou dans les dispositifs de prévention et l'évaluation de leur efficacité réelle, sans parler des effets environnementaux ou du devenir des nanoparticules en fin de vie des produits manufacturés.

Observations finales

Une grande partie des informations disponibles se rapporte à des particules de taille supérieure à 100 nm, sans qu'on sache toujours si, et dans quelle mesure, elles sont extrapolables au domaine des particules ultra-fines. Le recul scientifique est insuffisant pour s'exprimer de façon générale sur ce point.

Il est nécessaire :

- d'améliorer les interactions entre disciplines scientifiques, la qualité et la transparence des informations, la participation d'associations représentatives comme de syndicats de travailleurs,
- de s'assurer de l'indépendance de jugement et d'expression de groupes constitués ;
- de clarifier qui est responsable de quelles décisions, et les critères de base de ces décisions.

Les difficultés ne sont donc pas seulement scientifiques et techniques mais aussi politiques au sens large du terme. C'est par conséquent ici que prend fin cet exposé, en espérant qu'il vous a apporté des informations qui vous ont intéressés, sans cacher les nombreuses questions et difficultés qui restent à affronter.

Bibliographie sommaire

- Dominici F, Peng RD, Bell ML, Pham L, McDermott A, Zeger SL, Samet JM (2006). Fine Particulate Air Pollution and Hospital Admission for Cardiovascular and Respiratory Diseases. *J Am Med Assoc* 295, 1127-1134.
- Donaldson K, Brown D, Clouter A, Duffin R, MacNee W, Renwick L, Tran L, Stone V (2002). The pulmonary toxicology of ultrafine particles. *J Aerosol Med* 15(2) 213-220
- Eyles JE, Bramwell VW, Williamson ED, Alpar HO (2001). Microsphere translocation and immunopotentiality in systemic tissues following intranasal administration. *Vaccine* 19(32) 4732-4742.
- Gilmour MI, O'Connor S, Dick CA, Miller CA, Linak WP (2004). Differential pulmonary inflammation and in vitro cytotoxicity of size-fractionated fly ash particles from pulverized coal combustion. *J Air Waste Manag Assoc.* 54(3) 286-295.
- Heinrich U, Fuhrst R, Rittinghausen S, Creutzenberg O, Bellmann B, Koch W, Levsen K (1995). Chronic Inhalation Exposure of Wistar Rats and Two Different Strains of Mice to Diesel Engine Exhaust, Carbon Black, and Titanium Dioxide. *Inhal Toxicol* 7(4) 533-556.
- Hiura TS, Li N, Kaplan R, Horwitz M, Seagrave JC, Nel AE (2000). The Role of a Mitochondrial Pathway in the Induction of Apoptosis by Chemicals Extracted from Diesel Exhaust Particles. *J Immunol* 165, 2703-2711.
- Hunter DD, Dey RD (1997). Identification and neuropeptide content of trigeminal neurons innervating the rat nasal epithelium. *Neuroscience* 83(2) 591-599.
- Kendall M, Hamilton RS, Watt J, Williams ID (2001). Characterisation of selected speciated organic compounds associated with particulate matter in London. *Atmosph Environ* 35 (14) 2483-2495.
- Laden F, Schwartz J, Speizer FE, Dockery DW (2006). Reduction in fine particulate air pollution and mortality: Extended follow-up of the Harvard Six Cities study. *Am J Respir Crit Care Med.* 173(6) 667-672.
- Lanki T, de Hartog JJ, Heinrich J, Hoek G, Janssen NA, Peters A, Stolzel M, Timonen KL, Vallius M, Vanninen E, Pekkanen J (2006). Can we identify sources of fine particles responsible for exercise-induced ischemia on days with elevated air pollution? The ULTRA study. *Environ Health Perspect.* 114(5) 655-660.
- Lison D, Lardot C, Huaux F, Zanetti G, Fubini B (1997). Influence of particle surface area on the toxicity of insoluble manganese dioxide dusts. *Arch Toxicol* 71(12) 725-729.
- Morfeld P, Albrecht C, Drommer W, Borm PJA (2006). Dose-Response and Threshold Analysis of Tumor Prevalence after Intratracheal Instillation of Six Types of Low- and High-Surface-Area Particles in a Chronic Rat Experiment. *Inhalat Toxicol* 18(4) 215 – 225.
- Nemmar A, Hoylaerts MF, Hoet PH, Vermeylen J, Nemery B (2003). Size effect of intratracheally instilled particles on pulmonary inflammation and vascular thrombosis. *Toxicol Appl Pharmacol* 2003 Jan 1; 186(1) 38-45.
- Nemmar A, Hoylaerts MF, Hoet PH, Nemery B (2004). Possible mechanisms of the cardiovascular effects of inhaled particles: systemic translocation and prothrombotic effects. *Toxicol Lett* 149(1-3) 243-253.
- Oberdörster E (2004). Manufactured nanomaterials (fullerenes, C60) induce oxidative stress in the brain of juvenile largemouth bass. *Environ Health Perspect* 112(10) 1058-1062.
- Oberdörster G (1996). Significance of particle parameters in the evaluation of exposure-dose-response relationships of inhaled particles. *Inhal Toxicol* 8 (Suppl) 73-89.
- Oberdörster G, Sharp Z, Atudorei V, Elder A, Gelein R, Kreyling W, Cox C (2004). Translocation of Inhaled Ultrafine Particles to the Brain. *Inhal Toxicol* 16(6-7) 437-445.
- Ostro B, Broadwin R, Green S, Feng WY, Lipsett M (2006). Fine particulate air pollution and mortality in nine California counties: results from CALFINE. *Environ Health Perspect.* 114(1) 29-33.

- Penttinen P, Vallius M, Tiittanen P, Ruuskanen J, Pekkanen J (2006). Source-specific fine particles in urban air and respiratory function among adult asthmatics. *Inhal Toxicol.* 18(3) 191-198.
- Ryman-Rasmussen JP, Riviere JE, Monteiro-Riviere NA (2006). Penetration of intact skin by quantum dots with diverse physicochemical properties. *Toxicol Sci.* 91(1) 159-165.
- Sayes CM, Wahi R, Kurian PA, Liu Y, West JL, Ausman KD, Warheit DB, Colvin VL (2006). Correlating nanoscale titania structure with toxicity: a cytotoxicity and inflammatory response study with human dermal fibroblasts and human lung epithelial cells. *Toxicol Sci.* 92(1) 174-185.
- Semmler M, Seitz J, Erbe F, Mayer P, Heyder J, Oberdörster G, Kreyling WG (2004). Long-Term Clearance Kinetics of Inhaled Ultrafine Insoluble Iridium Particles from the Rat Lung, Including Transient Translocation into Secondary Organs. *Inhal Toxicol* 16(6-7) 453-459.
- Shima H, Koike E, Shinohara R, Kobayashi T (2006). Oxidative ability and toxicity of n-hexane insoluble fraction of diesel exhaust particles. *Toxicol Sci.* 91(1) 218-226.
- Shwe TTW, Yamamoto S, Ahmed S, Kakeyama M, Kobayashi T, Fujimaki H (2006). Brain cytokine and chemokine mRNA expression in mice induced by intranasal instillation with ultrafine carbon black. *Toxicol-Lett* 163(2) 153-160.
- Vila A, Sanchez A, Janes K, Behrens I, Kissel T, Vila Jato JL, Alonso MJ (2004). Low molecular weight chitosan nanoparticles as new carriers for nasal vaccine delivery in mice. *Eur J Pharm Biopharm* 57(1) 123-131.
- Warheit DB, Webb TR, Colvin VL, Reed KL, Sayes CM (2006). Pulmonary Bioassay Studies with Nanoscale and Fine Quartz Particles in Rats: Toxicity is not dependent upon Particle Size but on Surface Characteristics. *Toxicol Sci.* 2006 Oct 9; [Epub ahead of print]
- Wilson MR, Lightbody JH, Donaldson K, Sales J, Stone V (2002). Interactions between ultrafine particles and transition metals in vivo and in vitro. *Toxicol Appl Pharmacol* 184(3) 172-179.

Annexe 1 - Pistes de recherches en hygiène et sécurité au travail

La part consacrée aux recherches d'effets adverses possibles des nanotechnologies sur la santé humaine et l'environnement ne représente, aux États-Unis, que 3,9 % du budget nanotechnologies. D'après une compilation de plus de 350 études menées en divers pays, il apparaît un manque majeur sur le thème de la sécurité des lieux de travail. Les propositions évoquées ci-après sont des pistes dont la pertinence devra être appréciée et, au besoin, révisée au fur et à mesure de l'avancement des connaissances toxicologiques et des développements techniques.

1 - Meilleure connaissance des procédés de fabrication et des produits fabriqués

- développer la caractérisation des PUF, dont tendance à l'agglomération et ses conséquences.
- améliorer les connaissances des traitements de surface utilisés pour les PUF, et les méthodes pour les observer et pour mettre en évidence les évolutions des propriétés.
- savoir mieux caractériser les molécules adsorbées à la surface de nanoparticules et les surfaces correspondantes (taux de recouvrement, caractéristiques telles que plan cristallographique, zones de défauts, pores et leurs dimensions...).
- étudier les risques de relargage des PUF à partir de formulations complètes (y compris après inclusion dans une matrice polymère) au long de la durée de vie du produit (jusqu'au recyclage, ou après mise à la décharge). Ceci implique de veiller à la traçabilité des produits finis.
- mettre au point des échantillons de référence de nanoparticules aux caractéristiques bien établies (taille, forme, durabilité, composition, réactivité de surface...), qui puissent servir à la métrologie, la caractérisation, et l'évaluation de l'exposition et du risque (notamment pour des études comparatives en toxicologie ; UK, 2005)
- évaluer les performances réelles des dispositifs de protection.

2 - Améliorer nos capacités métrologiques et nos connaissances techniques

- développer la caractérisation des aérosols de PUF et les outils pour mesurer les expositions. Définir les paramètres à mesurer pour caractériser les expositions, si possible de manière à pouvoir utiliser les résultats dans l'avenir, et à favoriser l'harmonisation. Autrement dit : « *s'assurer de produire des résultats comparables, répétables, acceptés par la communauté scientifique, et sur lesquels on peut se fonder pour l'identification, l'évaluation et la gestion du risque.* » (UK, 2005). Étudier les possibilités d'automatisation partielle ou totale des caractérisations les plus difficiles ou les plus utiles, et leur validité.
- Préciser à court terme une nomenclature propre aux PUF (des aérosols correspondants, distribution granulométrique, comment tenir compte de l'agglomération, nommer des nanoparticules composées, etc.)
- Vérifier les caractéristiques de filtration des PUF les plus petites (< 5 nm)
- Développement de méthodes de mesurage simples, rapides, peu coûteuses, et compatibles avec une évaluation postérieure du risque. Développer et produire des méthodes et instruments abordables pour mesurer masse, surface, et taille (et distribution) des PUF. « *Il est important d'être clair sur ce qui doit être mesuré, pourquoi telle métrique a été retenue, et comment elle doit être mise en œuvre. Il est possible que les métriques les plus appropriées ne soient pas les mêmes pour des PUF différentes, par exemple la surface pour des PUF et le nombre pour des nanotubes.* » (UK, 2005)
- Améliorer les méthodes de dosage des PUF, notamment à faibles doses (y compris en nombre).
- Définir les limites de détection et de quantification des méthodes, les interférences possibles.
- Développement et/ou validation de stratégies de mesures des expositions aux PUF.
- Constituer des bases de données d'exposition professionnelle sur tous types de PUF et pour tous procédés de production (notamment en phase gazeuse), utilisation, ou autre.
- Étudier dans plusieurs secteurs industriels la variabilité de la composition des PUF (y compris spéciation) en fonction de leur taille, de la profondeur d'examen, du procédé de fabrication.

Une revue des besoins dans ce domaine a été publiée par Phalen et Hoover (2006), portant notamment sur les points suivants : établissement et validation de modèles dosimétriques (11 propositions) ; mieux comprendre les nanoparticules et les aérosols complexes (8 propositions) ; questions biologiques et effets sur la santé (9 propositions) ; autres priorités (4 propositions).

3 - Développer les connaissances toxicologiques

- Caractérisation complète des nanoparticules étudiées (indépendamment des données fournies par le producteur ou importateur), ainsi qu'après leur administration (si possible ; par exemple leur surface ou leur granulométrie a pu être modifiée). Préciser au moins la granulométrie, l'agglomération, la forme, la structure cristalline, la composition chimique (globale et spatiale), la surface spécifique, les charges de surface, et la porosité.
Note – Cette proposition doit bien figurer ici : comme montré en plusieurs occasions, la caractérisation des particules faisant l'objet d'études toxicologiques est souvent insuffisante, ce qui rend difficile l'interprétation ou la comparaison des résultats (cf. UK, 2005, paragraphe 127).
- Préciser également les méthodes de préparation des échantillons (milieu et méthodes de dispersion, agglomération dans ce milieu).
- Approfondir la toxicologie des PUF les plus répandues sur le marché, en particulier des silices ultrafines (pyrogénées, colloïdales), du dioxyde de titane et de l'oxyde de zinc ultrafins (utilisés en cosmétique), des nanotubes et des fullérènes (et leurs dérivés les plus courants, si nécessaire). Une priorité pourrait concerner les PUF pour lesquelles l'exposition est « délibérée » (applications médicales et paramédicales ; UK, 2005).
- Effets aigus et effets à long terme de PUF définies.
- Préciser et comprendre les mécanismes généraux qui gouvernent la dispersion des PUF dans l'organisme (voies cellulaires ou paracellulaires). Faire un point détaillé sur le danger d'un passage transplacentaire et ses éventuelles conséquences.
- Déterminer les voies de pénétration, les organes cibles et les modes d'action, en lien avec les caractéristiques physiques et chimiques des PUF (masse, nombre, surface, substances adsorbées,

solubilité, taille des particules, forme et facteur de forme, cristallinité, potentiel dzêta, composition, agrégation / désagrégation...). Faire le point spécifiquement sur des organes cibles de première importance (cerveau, poumons, foie, rate, reins, cœur par exemple).

- Étudier s'il est possible d'extrapoler les propriétés toxicologiques de PUF à partir de particules de même composition mais de dimensions non-nanométriques, et entre particules de tailles différentes.
- Peut-on différencier l'action des PUF attribuable à leur solubilisation de celle attribuable à leur état particulaire ?
- Confier à un groupe de travail l'examen détaillé du risque de passage percutané des PUF et dire si, oui ou non, et dans quelles conditions, les PUF peuvent traverser cette barrière. En l'absence de conclusions claires, continuer à étudier ces possibilités de passage, notamment en fonction de la taille, de la nature, et des revêtements de surface, ainsi que sous l'influence de flexions répétées.
- Diffuser, par tout moyen approprié, les connaissances relatives à la toxicologie des PUF. Favoriser séminaires et rencontres d'échanges d'informations et d'expériences.
- Comment repérer rapidement celles des PUF qui auraient tendance à la bioaccumulation ?
- Étude fine des mécanismes de la translocation, des paramètres qui la gouvernent, et de ses conséquences, notamment pour les organes les plus perfusés.
- Existe-t-il des mécanismes particuliers d'endocytose pour les PUF ? Comment les PUF se répartissent-elles à l'intérieur de la cellule, en fonction de leurs caractéristiques ? Quels facteurs favorisent un transport trans-cellulaire ou intra-cellulaire ? Quelle est l'influence de la taille, de la réactivité de surface ?
- Certaines PUF pourraient-elles présenter un potentiel allergisant ou irritant renforcé par rapport aux particules de dimensions plus usuelles ?
- Quels facteurs favorisent la désagrégation des PUF *in vivo* ? Quelles sont les implications de possibles désagréments / agrégations de PUF *in vivo* ?
- Facteurs et conséquences de la solubilité / insolubilité *in vivo* de PUF. En deçà de quelle taille cette question n'aurait-elle plus de sens ?
- Mieux comprendre les apports et limites des études *in vitro* par rapport aux études *in vivo*. Pourrait-on gagner du temps sur l'évaluation des dangers de PUF sans ajouter trop d'incertitude sur la fiabilité d'une telle évaluation ?
- Réalité et importance des conséquences des traitements de surface intentionnels des PUF. Étudier leur durabilité *in vivo*. Modulation des propriétés par d'autres molécules adsorbées en milieu réel.
- Meilleure connaissance de la variabilité des effets et réponses inter-espèces et de ses causes. Amélioration des connaissances pour la transposition inter-espèces.
- Suivi spécifique de l'état de santé de travailleurs impliqués dans la fabrication ou l'utilisation de PUF. Un suivi spécifique devrait être envisagé pour les applications médicales des PUF.

Sur le plan des essais toxicologiques en particulier, il est important de se référer aux analyses et propositions détaillées d'Oberdörster et coll. (2005).

4 - Développer des mesures de prévention adaptées aux PUF

- Effectuer une synthèse des connaissances d'ensemble sur les PUF afin de mieux discerner quels paramètres régissent le plus généralement leur toxicité, et quels types de PUF mériteraient des études spécifiques en priorité.

Tel est l'un des buts principaux du présent ouvrage. Nous espérons qu'avec d'autres (cf. annexe), il répond à ce besoin, même si, du fait des évolutions rapides des connaissances, des mises au point complémentaires seront nécessaires.

- Étudier la possibilité de demander une déclaration de fabrication de PUF, et sous quelles conditions, en particulier si elles sont commercialisées. Étudier également la possibilité d'une déclaration (nature et quantité) dans le cas de PUF formulées non fixées dans une matrice.

- Vérifier la validité ou les points faibles des mesures générales et particulières de prévention appliquées aussi bien à la fabrication qu'à la mise en œuvre de PUF largement utilisées (noirs de carbone, dioxyde de titane, oxyde de zinc, silices dites amorphes), en développement (nanotubes de carbone, fullérènes, par exemple) ou même entièrement nouvelles. Dans un premier temps, l'accent sera mis sur l'évaluation de l'exposition professionnelle (voies pulmonaire, cutanée, orale). Que sait-on de l'efficacité des EPI dans le cadre des PUF ?

- Instituer un suivi médical spécifique (examen d'embauche, suivi en cours d'exercice, suivi post-professionnel) pour les personnes professionnellement exposées aux particules ultra-fines. Veiller à ce que les données recueillies soient pertinentes et exploitables ultérieurement, notamment du point de vue épidémiologique.
- Réfléchir à la nécessité et la possibilité de définir des valeurs limites provisoires d'exposition professionnelle opérationnelles pour les PUF (génériques ou au cas par cas, selon l'avancement des connaissances).
- Faire un point sur l'utilisation de PUF dans le monde médical : types de PUF, modalités d'utilisation, quantités manipulées, précautions prises, incidents, plaintes ou suggestions, etc.
- Considérer que toute information relative à l'hygiène ou la sécurité des PUF relève du domaine public (tout en veillant au respect du secret de fabrication).
- Faut-il traiter les PUF comme des substances nouvelles, voire instaurer un système « nano-REACH » ? La question est notamment posée par le Comité de la prévention et de la précaution (CPP, 2006 ; voir entre autres les pages 35-37).
- Dans quelles conditions faut-il s'inquiéter d'un éventuel pouvoir explosif de PUF ?
- Encourager de bonnes pratiques d'utilisation (par exemple en vase clos plutôt qu'à ciel ouvert, en milieu aqueux plutôt qu'à sec, en paillettes agglomérées plutôt qu'en poudre,...) et les faire connaître.
- Exactitude et efficacité des FDS dans la communication des risques des PUF et la mise en œuvre de mesures de prévention.
- D'ici 3 à 4 ans, faire un point des recommandations effectuées, actions entreprises et leur efficacité, ainsi qu'un point relatif aux développements récents et leurs conséquences potentielles, et s'ils semblent nécessiter une adaptation des recommandations.

5 - Optimiser nos stratégies de résolution de difficultés

- Favoriser la multidisciplinarité, y compris entre scientifiques de diverses spécialités et « politiques », « verts », « organisations non-gouvernementales », ou encore « législateurs ». Favoriser les échanges entre les domaines environnementaux et du travail. Harmoniser le plus possible les méthodes de mesurage et les techniques d'interprétation des résultats (y compris avec l'aide de modèles mathématiques et statistiques).
- faire participer l'Industrie à la détection, la caractérisation, l'étude et la résolution de difficultés liées aux PUF (sans lui abandonner la responsabilité unique des décisions à prendre). Lui demander de faire connaître les mesures qu'elle applique pour minimiser les risques, et comment elle en objective l'efficacité.
- Assurer la plus grande transparence possible aux processus de décision.
- Faire effectuer régulièrement des bilans (actions décidées, mise en œuvre, efficacité, échecs, ré-orientations,...) par une (ou des) organisation(s) indépendante(s) et les publier.

Annexe 2 – Quelques rapports sur les nanoparticules

Cette liste, bien que volontairement limitée aux rapports scientifiques d'un certain volume, ne prétend pas à l'exhaustivité. Nous espérons qu'elle pourra rendre service à ceux qui voudraient diversifier ou approfondir leurs sources d'information.

Académie des sciences et Académie des technologies (2003 ?). *Nanosciences, nanotechnologie*. Ed. Tech & Doc, 480 pages.

AFSSET (2006). Les nanomatériaux. Effets sur la santé de l'homme et sur l'environnement. Rapport de l'Agence française de sécurité sanitaire de l'environnement et du travail, juillet 2006, 248 pages.

Anonyme (2004). Developing experimental approaches for the evaluation of toxicological interactions of nanoscale materials. Workshop, Nov. 3-4, 2004, Gainesville, FL., 32 pages.

BIA (2004). BIA-Report 7/2003e. BIA-Workshop "Ultrafine aerosols at workplaces", Carsten Möhlmann editor. 208 pages. ISBN : 3-88383-676-1.

- CE (2004). Nanotechnologies: a 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, 143 pages.
- CE (2005). Nanotechnology – Proceedings of the Workshop: *Research Needs on Nanoparticles*, held in Brussels, 25-26 January 2005, 96 pages. Édité par R. Tomellini et C. de Villepin.
- Comité de la prévention et de la précaution (2006). Nanotechnologies, nanoparticules. Quels dangers, quels risques ? Co-édité avec le Ministère de l'écologie et du développement durable, Paris, mai 2006, 64 pages.
- EPA (2005). U.S. Environmental Protection Agency. Nanotechnology white paper. December 2, 123 pages. http://cohesion.rice.edu/CentersAndInst/ICON/emplibrary/EPA_Nanotechnology_White_Paper_EXTERNAL_REVIEW_DRAFT_12-1-05.pdf
- Feigenbaum D, Nsamirizi A, Sinclair-Desgagne B (2004). Les nanotechnologies : leurs bénéfices et leurs risques potentiels. Centre inter-universitaire de recherche en analyse des organisations (CIRANO), Montréal, série scientifique, 43 pages.
- Gijsbers JHJ, de Pater AJ, Snippe RJ, Arts JHE (2000). – Ultrafine particles in the workplace. TNO Report V 3045, 58 pages.
- Hahn FF, Barr EB, Ménache MG, Seagrave JC (2005). *Particle Size and Composition Related to Adverse Health Effects in Aged, Sensitive Rats*. HEI Research Report 129. Septembre 2005, 84 pages.
- Hett A (et collaborateurs non précisés) (2004). Nanotechnology – Small matter, many unknowns. Swiss Reinsurance Company (Swiss Re) P.O. Box 8022, Zurich. 53 pages.
- Hext PM, Rogers KO, Paddle GM (1999). *The health effects of PM2.5 (including ultrafine particles)*. CONCAWE, Brussels. Report n° 99/60.
- HSE (2004). A review of the toxicity of particles that are intentionally produced for use in nanotechnology applications, seen from an occupational health perspective. Health and Safety Executive, Industrial Chemicals Unit, July 2004, 41 pages.
- Lorrain JL, Raoul D (2004). Nanosciences et progrès médical. Rapport de l'Office parlementaire d'évaluation des choix scientifiques et techniques, Assemblée nationale, mai 2004, n° 1588, 298 pages.
- Mark D (2004). Nanomaterials: a risk to health at work? Proceedings of the first international symposium on occupational health implications of nanomaterials, 12-14 October 2004, Buxton, Derbyshire, UK, 156 pages.
- Morawska L, Moore MR, Ristovski Z (2004). Health Impacts of Ultrafine Particles. Desktop literature review and analysis. Australian Government, Department of the Environment and Heritage, ISBN 0642550557, 311 pages. <http://www.deh.gov.au/atmosphere/airquality/publications/health-impacts/pubs/health-impacts.pdf>.
- NIOSH (2005). NIOSH Current Intelligence Bulletin: Evaluation of Health hazard and recommendations for occupational exposure to titanium dioxide. November 22, 2005, draft, 120 pages.
- Oberdörster G, Finkelstein JN, Johnston C, Gelein R, Cox C, Baggs R, Elder AC (2000). Acute pulmonary effects of ultrafine particles in rats and mice. Rapport de recherche n° 96 du Health Effects Institute, pp. 5-74 ; discussion pp. 75-86.
- Ostiguy C, Lapointe G, Trottier M, Ménard L, Cloutier Y, Boutin M, Antoun M, Normand C (2006). Les effets à la santé reliés aux nanoparticules. IRSST , rapport R-451, 48 pages.
- Ostiguy C, Lapointe G, Ménard L, Cloutier Y, Trottier M, Boutin M, Antoun M, Normand C (2006). Les nanoparticules. Connaissances actuelles sur les risques et les mesures de prévention en santé et sécurité du travail. IRSST , rapport R-455, 78 pages.
- Technological analysis. Industrial application of nanomaterials – Chances and risks. VDI Technologiezentrum. W. Luther Editor. Future technologies No. 54, Düsseldorf, August 2004, 112 pages.
- The Royal Society and Royal Academy of Engineering. (2005). Nanoscience and nanotechnologies, opportunities and uncertainties. <http://www.nanotec.org.uk/finalReport.htm>. 94 pages.
- SCENIHR (2005). Scientific Committee on Emerging and Newly Identified Health Risks. Opinion on the appropriateness of existing methodologies to assess the potential risks associated with engineered and adventitious products of nanotechnologies. SCENIHR/002/05, adopted 29 September 2005 (78 pages).
- UK (2005). Characterising the potential risks posed by engineered nanoparticles. A first UK Government research report. Published by the department for environment, food and rural affairs. 57 pages. <http://www.defra.gov.uk/environment/nanotech/nrcg/pdf/nanoparticles-riskreport.pdf>

- Wichmann HE, Spix C, Tuch T, Wölke G, Peters A, Heinrich J, Kreyling WG, Heyder J (2000). Daily mortality and fine and ultrafine particles in Erfurt, Germany. Part I, role of particle number and particle mass. HEI Report No. 98. Cambridge, MA, pp. 1-96.
- WHO (2003). Health aspects of air pollution with particulate matter, ozone and nitrogen dioxide. Report on a WHO Working Group, Bonn, Germany, 13-15 January 2003. WHO Regional Office for Europe, Copenhagen.