

Substances chimiques et agents biologiques

Études et recherches

RAPPORT R-558



Les effets sur la santé reliés aux nanoparticules

2^e édition (avril 2008)

*Claude Ostiguy
Brigitte Soucy
Gilles Lapointe
Catherine Woods
Luc Ménard
Mylène Trottier*



Solidement implanté au Québec depuis 1980, l'Institut de recherche Robert-Sauvé en santé et en sécurité du travail (IRSST) est un organisme de recherche scientifique reconnu internationalement pour la qualité de ses travaux.

NOS RECHERCHES

Mission *travaillent pour vous !*

Contribuer, par la recherche, à la prévention des accidents du travail et des maladies professionnelles ainsi qu'à la réadaptation des travailleurs qui en sont victimes.

Offrir les services de laboratoires et l'expertise nécessaires à l'action du réseau public de prévention en santé et en sécurité du travail.

Assurer la diffusion des connaissances, jouer un rôle de référence scientifique et d'expert.

Doté d'un conseil d'administration paritaire où siègent en nombre égal des représentants des employeurs et des travailleurs, l'IRSST est financé par la Commission de la santé et de la sécurité du travail.

Pour en savoir plus

Visitez notre site Web ! Vous y trouverez une information complète et à jour.

De plus, toutes les publications éditées par l'IRSST peuvent être téléchargées gratuitement. www.irsst.qc.ca

Pour connaître l'actualité de la recherche menée ou financée par l'IRSST, abonnez-vous gratuitement au magazine Prévention au travail, publié conjointement par l'Institut et la CSST.
Abonnement : 1-877-221-7046

Dépôt légal

Bibliothèque et Archives nationales
2008

ISBN : 978-2-89631-259-7 (version imprimée)

ISBN : 978-2-89631-260-3 (PDF)

ISSN : 0820-8395

IRSST - Direction des communications
505, boul. De Maisonneuve Ouest
Montréal (Québec)
H3A 3C2
Téléphone : 514 288-1551
Télécopieur : 514 288-7636
publications@irsst.qc.ca
www.irsst.qc.ca
Institut de recherche Robert-Sauvé
en santé et en sécurité du travail,
avril 2008



Substances chimiques et agents biologiques

Études et recherches

■ RAPPORT R-558

Les effets sur la santé reliés aux nanoparticules

2^e édition (avril 2008)

Avis de non-responsabilité

L'IRSST ne donne aucune garantie relative à l'exactitude, la fiabilité ou le caractère exhaustif de l'information contenue dans ce document. En aucun cas l'IRSST ne saurait être tenu responsable pour tout dommage corporel, moral ou matériel résultant de l'utilisation de cette information.

Notez que les contenus des documents sont protégés par les législations canadiennes applicables en matière de propriété intellectuelle.

*Claude Ostiguy¹, Brigitte Soucy², Gilles Lapointe³,
Catherine Woods², Luc Ménard³ et Mylène Trottier⁴*

¹IRSST

²IRSST/Université de Montréal

³CSST

⁴Proximeduc

Cliquez recherche
www.irsst.qc.ca



Cette publication est disponible
en version PDF
sur le site Web de l'IRSST.

CONFORMÉMENT AUX POLITIQUES DE L'IRSS

Les résultats des travaux de recherche publiés dans ce document
ont fait l'objet d'une évaluation par des pairs.

RÉSUMÉ

La recherche dans le domaine des nanoparticules (NP) et de la nanotechnologie croît à un rythme stupéfiant. La raison en est fort simple : les propriétés uniques des NP devraient permettre le développement de produits aux caractéristiques inédites et une pléthore d'applications dans tous les champs de l'activité humaine, générant de ce fait des retombées économiques considérables.

On prévoit que le nombre de travailleurs québécois exposés aux NP, tant par leur utilisation et leur transformation que par leur production, s'accroîtra au cours des prochaines années. D'ailleurs, plusieurs produits sont déjà commercialisés et quelques entreprises québécoises ont maintenant la capacité de fabriquer des NP à grande échelle.

Alors que la recherche technologique est déjà bien établie avec de nombreux transferts en production industrielle, celle sur l'évaluation des risques pour la santé et la sécurité (SST) des travailleurs accuse un important retard. Elle s'est toutefois fortement développée au cours des dix dernières années. Un premier bilan des connaissances sur les risques pour la santé des NP avait été publié par notre équipe à l'hiver 2006 et couvrait alors la littérature jusqu'en 2004. Le présent rapport en est la seconde édition et il intègre les connaissances scientifiques jusqu'à la mi-2007.

Les NP insolubles ou peu solubles dans les fluides biologiques sont les plus préoccupantes. À cause de leur taille infime, plusieurs études ont démontré un comportement qui est unique aux NP. Certaines peuvent franchir nos différents mécanismes de défense et être transportées sous forme insoluble dans l'organisme. Elles peuvent donc se retrouver dans le sang en ayant franchi les membranes pulmonaires ou gastro-intestinales, se distribuer dans les différents organes et s'accumuler à certains sites spécifiques. D'autres peuvent voyager le long des nerfs olfactifs et pénétrer directement dans le cerveau ou encore franchir les barrières cellulaires et rejoindre le noyau de la cellule. Très étudiées en pharmacologie, ces propriétés pourraient permettre d'utiliser des NP comme vecteurs afin d'acheminer des médicaments à des sites ciblés de l'organisme, incluant le cerveau. Le corollaire est que des NP indésirables pourraient être distribuées dans l'organisme des travailleurs exposés et y produire des effets délétères.

Normalement, en toxicologie, les effets sont corrélés à la quantité de produit auquel l'animal ou l'homme sont exposés. Plus grande est la masse absorbée, plus grand est l'effet. Dans le cas des NP, il a clairement été démontré que les effets mesurés ne sont pas reliés à la masse du produit, bouleversant ainsi l'interprétation classique des mesures de toxicité. Il est en effet avéré qu'à masse égale, les NP sont plus toxiques que les produits de même composition chimique de taille supérieure.

Quoique plusieurs études aient trouvé une corrélation entre la surface spécifique et les effets toxiques, il semble se dégager un consensus dans la communauté scientifique à l'effet que plusieurs facteurs contribuent à la toxicité de ces produits de nouvelle génération et qu'il est actuellement impossible, à partir de nos connaissances fragmentaires, de pondérer leur importance respective ou de prédire avec précision la toxicité d'une nouvelle NP. Les études publiées relient les effets observés à différents paramètres: la surface spécifique, le nombre de particules, la taille et la distribution granulométrique, la concentration, la dose de surface,

le recouvrement de surface, le degré d'agglomération des particules et le site de déposition pulmonaire, la charge de surface, la forme, la porosité, la structure cristalline, le potentiel d'attraction électrostatique, la méthode de synthèse des particules, le caractère hydrophile/hydrophobe et les modifications post-synthèse (le recouvrement de surface pour empêcher l'agglomération). La présence de certains contaminants tels les métaux peut également favoriser la formation de radicaux libres et l'inflammation alors que la composition chimique et le relargage de composantes de la surface, les propriétés colloïdales et de surface des NP, la compartimentation dans les voies respiratoires et la biopersistence sont autant de facteurs rendant plus complexe encore la compréhension de leur toxicité. En outre, la lente dissolution de certaines NP ou de certaines composantes des NP dans l'organisme est à même de devenir un élément majeur dans leur toxicité. Ces divers facteurs vont conséquemment influencer leur impact fonctionnel, toxicologique et environnemental.

Chez l'animal, plusieurs effets ont déjà été démontrés dont des effets toxiques au niveau de plusieurs organes (cœur, poumons, reins, système reproducteur...) de même que de la génotoxicité et de la cytotoxicité. Certaines particules, par exemple, causent des granulomes, de la fibrose et des réactions tumorales au niveau pulmonaire. C'est ainsi qu'une substance reconnue comme peu toxique, le bioxyde de titane, démontre une importante toxicité pulmonaire lorsqu'elle est de dimension nanométrique. Globalement, les données toxicologiques spécifiques aux NP demeurent limitées. Au-delà de données très partielles, l'évaluation quantitative du risque est difficile pour la plupart des substances notamment à cause de la courte période d'exposition, de la composition différente des NP testées (diamètre, longueur et agglomération) ou de la voie d'exposition souvent non représentative de l'exposition professionnelle. Des études additionnelles (l'absorption, la biopersistence, la cancérogénicité, la translocation vers d'autres tissus ou organes, l'accumulation, etc.) sont donc nécessaires afin de disposer de l'ensemble des informations requises pour l'évaluation quantitative du risque associé à l'exposition par inhalation et à l'exposition percutanée chez les travailleurs.

Bien que de grandes tendances se dessinent et révèlent de nombreux effets toxiques reliés à certaines NP, il ressort que chaque produit synthétisé pourra avoir une toxicité qui lui est propre. Il semble en effet que toute modification de procédé ou de surface puisse avoir un impact sur la toxicité du produit résultant.

Dans un tel contexte, les auteurs de ce rapport sont d'avis que l'IRSST devrait favoriser l'instauration de procédures strictes de prévention qui demeure la seule façon de prévenir le risque de développement de maladies professionnelles. Ils recommandent ainsi fortement que l'IRSST concentre prioritairement ses efforts de recherche sur le développement de stratégies et d'outils d'évaluation de l'exposition de même que sur le développement et la mesure de l'efficacité de moyens de contrôle de l'exposition professionnelle aux NP.

TABLE DES MATIÈRES

RÉSUMÉ.....	i
1. INTRODUCTION.....	1
2. OBJECTIFS	7
3. MÉTHODOLOGIE.....	9
4. LES EFFETS DES FULLERÈNES SUR LA SANTÉ.....	11
4.1. La toxicocinétique.....	11
4.2. Les effets selon les voies d'exposition (administration).....	13
5. LES EFFETS DES NANOTUBES DE CARBONE SUR LA SANTÉ	19
5.1 La toxicocinétique.....	19
5.2. Les effets selon les voies d'exposition (administration).....	21
6. LES EFFETS DES NANOPARTICULES INORGANIQUES SUR LA SANTÉ.....	35
6.1. La toxicocinétique.....	35
6.2. Les effets selon les voies d'exposition (administration).....	39
7. LES EFFETS DES NANOPARTICULES ORGANIQUES SUR LA SANTÉ	59
7.1. La toxicocinétique.....	59
7.2. Les effets selon les voies d'exposition (administration).....	61
8. LES EFFETS DES NANOCAPSULES, NANOSPHERES ET NANOCOQUILLES ET DENDRIMÈRES SUR LA SANTÉ	65
8.1. La toxicocinétique.....	65
8.2. Les effets selon les voies d'exposition (administration).....	66
9. LES EFFETS DES POINTS QUANTIQUES SUR LA SANTÉ	71
9.1. La toxicocinétique.....	71
9.2. Les effets selon les voies d'exposition (administration).....	75
10. LES EFFETS DES AUTRES NANOMATÉRIAUX SUR LA SANTÉ	79
11. DISCUSSION.....	83
12. CONCLUSION	93
13. BIBLIOGRAPHIE	95

1. INTRODUCTION

Des bilans de connaissances complets ont été produits par notre équipe et portent sur les informations actuellement disponibles relatives aux types de NP, à leur synthèse et à leurs applications, aux risques pour la santé et aux défis de l'évaluation de l'exposition. Sont également traités les aspects de contrôle et de prévention en santé et en sécurité du travail associés aux NP (Ostiguy *et al.*, 2006a, 2006b, 2008a). Le chapitre du bilan de connaissances en hygiène (Ostiguy *et al.*, 2008a) concernant les risques pour la santé se fonde en grande partie sur l'intégration des données de la littérature relatives à la toxicité des NP. Celles-ci sont produites de façon volontaire afin de développer de nouveaux matériaux qui présentent certaines propriétés spécifiques reliées à au moins une de leurs dimensions devant être de moins de 100 nanomètres (nm).

Des études récentes sur les effets biologiques des NP signalent que certaines NP manufacturées démontrent une toxicité imprévue vis-à-vis les organismes vivants et sont susceptibles de causer des effets néfastes à la santé humaine.

Quelques caractéristiques des nanoparticules

Des propriétés uniques émergent pour les NP avec une réduction de leur taille qui entraîne une augmentation substantielle de la surface spécifique de même que l'énergie libre de Gibbs en surface. Ce paramètre physique d'énergie libre reflète que la réactivité chimique s'accroît rapidement avec la diminution de la taille de la particule. À titre d'exemple, l'eau a une surface spécifique de $12,57 \times 10^{-3} \text{ m}^2/\text{g}$ à un diamètre de un millimètre alors que sa surface augmente à $12,57 \times 10^{+3} \text{ m}^2/\text{g}$ à un diamètre d'un nanomètre. L'énergie de surface augmente également d'un facteur d'un million en passant du millimètre au nanomètre (Zhao et Nalwa, 2007c).

Cela signifie que la NP possède une très grande surface spécifique, une proportion importante de leurs molécules en surface et une très haute réactivité. Cette réactivité spécifique accrue des NP permet de comprendre en partie que les comportements biologiques de même que les effets des NP sur les organismes vivants peuvent être totalement différents avec une diminution de la taille des particules. Les résultats d'études de toxicité ont d'ailleurs conduit à remettre en question les concepts traditionnels d'évaluation du risque toxique qui repose habituellement sur la relation dose-réponse, la dose étant exprimée en masse ou en concentration. Ils ont en effet établi qu'à cause de la dimension nanométrique, les surfaces spécifiques, les modifications de surface, le nombre de particules, les propriétés de surface (stéréochimie, degré d'ionisation, potentiel d'oxydo-réduction, solubilité, force intermoléculaire, distance interatomique entre les différents groupes fonctionnels, coefficient de partage), la concentration, la dimension, la structure... sont autant de facteurs dont il faut dorénavant tenir compte dans l'évaluation de la toxicité.

De plus, contrairement à des études de toxicité avec des particules de plus grandes dimensions, la dose d'exposition initiale peut engendrer une certaine incertitude étant donné que les NP sont à même de s'agglomérer en particules plus grandes durant le processus de génération, lors de l'exposition hors de l'organisme ou durant les procédés de translocation dans l'organisme. Ceci est particulièrement vrai durant les essais d'exposition par inhalation. C'est donc dire que la forme et les propriétés physico-chimiques des NP sont en mesure d'évoluer lors de l'expérimentation et que les micro-environnements biologiques peuvent être extrêmement sensibles à ces modifications. Il peut en résulter une variation importante des interactions entre les systèmes biologiques et les NP, ce qui rend d'autant plus complexe l'interprétation des résultats des études de toxicité (Zhao *et al.*, 2007a).

Absorption et déposition pulmonaire des nanoparticules

Les poumons constituent la principale voie d'entrée des poussières dans l'organisme humain. Le dépôt des poussières le long de l'arbre pulmonaire varie considérablement en fonction de la granulométrie des poussières ultrafines ou nanométriques et de leur comportement dans l'air. Normalement, pour les poussières plus grossières rencontrées dans les milieux de travail, la proportion des poussières se déposant dans les alvéoles augmente avec la diminution du diamètre de la particule pour atteindre une valeur maximale de l'ordre de 20 % pour des particules de trois micromètres, ce pourcentage diminuant graduellement par la suite. Cette situation a amené les hygiénistes et les médecins du travail à présumer que plus la particule est petite, plus elle se dépose profondément dans les poumons. Or il faut être prudent avec ce vieux réflexe car la situation est radicalement différente avec les NP.

La figure 1, tirée de Witschger et Fabriès (2005) et reproduite avec l'autorisation de l'Institut National de Recherche Scientifique en France (INRS), illustre le taux de déposition dans les différentes régions pulmonaires en fonction de la grosseur des particules. Cette figure, reprise dans un rapport technique ISO (2007) illustre clairement qu'aucune particule de 1 nm de diamètre aérodynamique, soit 0,001 micromètre, n'atteint les alvéoles alors que 80 % se déposent au niveau du nez et du pharynx, les autres 20 % se situant dans la région de la trachée et des bronches. À cette dimension, la rétention des NP inhalées est de près de 100 %.

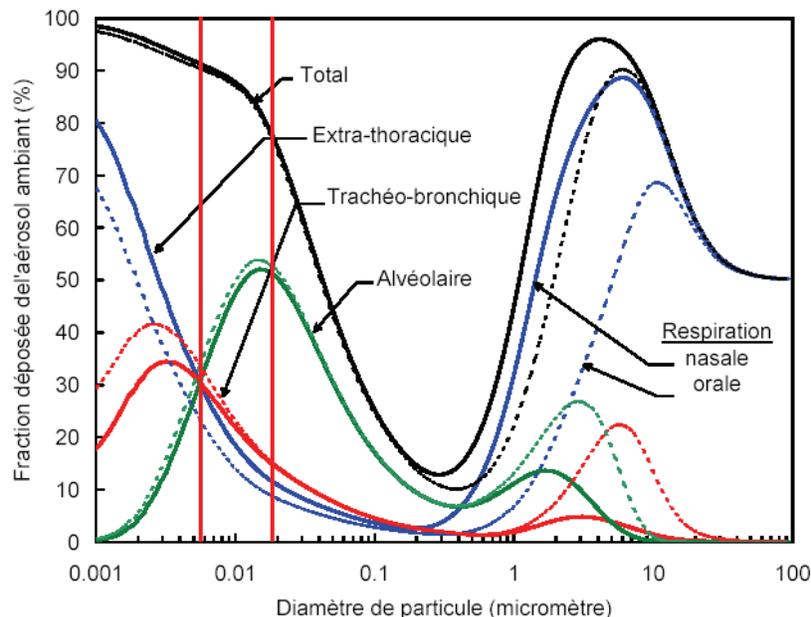


Figure 1 : Prédiction du dépôt total et régional des particules dans les voies respiratoires en fonction de la taille des particules. Reproduit avec autorisation de l'INRS-France.

En accroissant la dimension des particules à 5 nm (ligne verticale à gauche de 0,01 micromètre), 90 % de l'ensemble des particules inhalées sont retenues dans le poumon et celles-ci se déposent alors de façon relativement uniforme dans les trois régions. L'absorption pulmonaire totale de particules de 20 nm (seconde ligne verticale, à droite de 0,01) diminue à 80 % mais plus de 50 % des particules de l'ordre de 16-20 nm se déposent au niveau des alvéoles. C'est donc dire que 20 % des particules inhalées pénètrent dans le poumon mais ressortent de celui-ci lorsque l'on exhale. La granulométrie des particules a donc un impact majeur sur le site de dépôt pulmonaire

(Witschger et Fabriès, 2005; Oberdörster, 2005a; Zhao et Nalwa, 2007; ISO, 2007). Dans plusieurs procédés de fabrication de NP, la granulométrie peut également varier beaucoup en fonction de l'étape de la production. Pour comprendre le comportement des poussières et les phénomènes d'agrégation, il est recommandé de consulter les rapports IRSST (Ostiguy *et al.*, 2006b, 2008a).

Les trois régions pulmonaires laissent apparaître d'importantes différences de surface là où les particules se déposent. Par exemple, même si la masse de particules ultrafines de 20 nm qui se déposent dans la région alvéolaire représente plus de 50 % de la masse totale, la concentration de poussières déposées, exprimée par unité de surface dans le poumon, sera tout de même plus de 100 fois supérieure dans la région nasale et plus de 10 fois supérieure dans la région de la trachée et des bronches (Oberdörster, 2005a). La quantité et le lieu de déposition des particules dans l'arbre pulmonaire sont également influencés, de façon significative, par la présence d'une maladie pulmonaire pré-existante (Maynard et Kuempel, 2005; US EPA, 2005). Le taux de déposition de particules dans les bronchioles supérieures est ainsi quatre fois plus élevé chez les personnes souffrant de maladie pulmonaire obstructive chronique (MPOC) que chez les individus en santé exposés à la même concentration de particules (US EPA, 2005). Ces différences au niveau de la distribution des poussières dans les poumons pourront avoir des conséquences importantes sur les effets sur la santé des particules ultrafines inhalées et sur les mécanismes d'élimination en jeu (Schiller *et al.*, 1988; Kim et Jaques, 2000; Jaques et Kim, 2000; Daigle *et al.*, 2003; Oberdörster, 2005a, 2005b; Zhang *et al.*, 2005b). Par ailleurs, l'augmentation du volume respiratoire et de la fraction déposée au cours de l'exercice physique peut accroître de plus de 4,5 fois le nombre total de particules déposées comparativement au repos (Daigle *et al.*, 2003) et changer le site de dépôt en augmentant significativement la vitesse des particules et la possibilité d'impaction dans les voies supérieures (Zhao et Nalwa, 2007).

L'élimination des poussières déposées dans les poumons

L'organisme humain dispose de différents mécanismes de défense pour éliminer les corps étrangers indésirables. Deux procédés sont impliqués : la dissolution chimique pour les particules solubles et la translocation physique, c'est-à-dire le transport d'un endroit à un autre, pour les particules insolubles ou peu solubles. Les poussières ultrafines solubles agiront au site de la solubilisation et ne seront pas traitées ici, les effets étant, d'une part, très variables en fonction de la composition des poussières et d'autre part, identiques aux poussières de plus grandes tailles également solubilisées.

Par la translocation, les particules insolubles ou peu solubles déposées dans l'arbre pulmonaire sont éliminées du système respiratoire et transportées ailleurs dans l'organisme. Les particules les plus grosses qui se déposent normalement dans les parties supérieures des poumons, principalement au niveau de la trachée et des bronches, sont éliminées par le mécanisme d'ascenseur mucociliaire où les muqueuses de la trachée et des bronches sont recouvertes de cellules ciliées qui forment un ascenseur et repoussent le mucus contenant les particules vers le système digestif. C'est en général un mécanisme efficace qui élimine les particules en moins de 24 h, y compris les particules ultrafines (Kreyling *et al.*, 2002).

Au niveau alvéolaire, les macrophages vont prendre charge des particules insolubles par un mécanisme de phagocytose où ils vont entourer les particules, les digérer si elles le peuvent et se diriger lentement vers l'ascenseur mucociliaire pour leur élimination. Ce processus est relativement lent et démontre une demi-vie d'environ 700 jours chez l'homme (Oberdörster, 2005a). L'efficacité de la phagocytose est par contre fortement dépendante de la forme et de la grosseur de la particule. Plusieurs études semblent démontrer que les particules ultrafines non agglomérées déposées dans les alvéoles ne sont pas phagocytées de façon efficace par les macrophages (notamment les particules dont le diamètre est inférieur à 70 nm ; Bergeron et

Archambault, 2005), ceux-ci étant par contre très efficaces dans le domaine de un à trois micromètres, donc pour des particules beaucoup plus grosses (Tabata et Ikada, 1988; Green *et al.*, 1998).

La prise en charge souvent incomplète des poussières ultrafines et nanométriques par les macrophages peut conduire à une importante accumulation de particules si l'exposition est poursuivie ainsi qu'à une plus grande interaction de ces particules avec les cellules épithéliales des alvéoles. Des études ont établi que certaines particules ultrafines peuvent traverser l'épithélium et rejoindre les tissus interstitiels (Ferin *et al.*, 1992; Oberdörster *et al.*, 1992, 1994, 2000; Kreyling et Scheuch, 2000; Kreyling *et al.*, 2002; Borm *et al.*, 2003, 2004). Ce phénomène semble plus important chez des espèces supérieures tels le chien et le singe comparativement aux rongeurs (Nikula *et al.*, 1997; Kreyling et Scheuch, 2000). Une fois l'épithélium franchi, une fraction des particules pourra rejoindre les nodules lymphatiques.

Autres mécanismes d'absorption des nanoparticules

Il est maintenant reconnu que deux autres mécanismes contribuent à l'absorption des particules ultrafines de dimensions nanométriques. Les particules ultrafines et les NP peuvent atteindre les organes extra-pulmonaires via la circulation sanguine (Oberdörster *et al.*, 2002, 2005a, 2005b; Nemmar *et al.*, 2001, 2002a; Meiring *et al.*, 2005). Une fois rendues dans le système sanguin, les NP peuvent circuler à travers tout l'organisme et se distribuer dans les différents organes. De plus, certaines particules peuvent être transportées le long des axones des nerfs sensitifs vers le système nerveux central (Oberdörster *et al.*, 2004; Qingnuan *et al.*, 2002; Mikawa *et al.*, 2001; Wang *et al.*, 2004). Ces deux mécanismes pourraient jouer un rôle majeur dans le développement de certaines maladies cardiaques ou du système nerveux central mais ces phénomènes demeurent à être clairement démontrés chez l'homme (Oberdörster, 2005a, 2005b). Katz *et al.* (1984) ont décrit le transport neuronal du nez vers le cerveau pour des microsphères de 20 à 200 nm. L'inhalation de particules de carbone radiomarquées de 35 nm a conduit à une accumulation significative dans le bulbe olfactif de rats sept jours après exposition. Plusieurs études ont permis de démontrer que dans le cas d'exposition de rats à des poussières ou à des fumées de soudage contenant du manganèse, une fraction du manganèse insoluble pouvait franchir la barrière hémato-encéphalique en circulant directement du nez au cerveau par les nerfs olfactifs lui permettant, ainsi, de s'accumuler au cerveau. De telles études ont également été réalisées avec divers métaux solubles et ont conduit aux mêmes conclusions (DeLorenzo, 1970 ; Tjalve et Henriksson, 1999 ; Brenneman *et al.*, 2000 ; Dorman *et al.*, 2002 ; Ostiguy *et al.*, 2003, 2005, 2006c; Oberdorster *et al.*, 2004 ; Salehi, 2005 ; Elder *et al.*, 2007). Chez l'homme, il est clairement prouvé que le manganisme est relié à l'accumulation de manganèse au cerveau bien que le mécanisme exact de cette accumulation ne soit pas encore expliqué (Ostiguy *et al.*, 2003, 2005).

Les effets des poussières ultrafines

Plusieurs maladies pulmonaires reliées aux fines poussières en milieu de travail sont connues depuis longtemps : pneumoconiose (silicose, amiantose), cancer pulmonaire, fièvre du soudeur, asthme professionnel, béryllose, etc. Donaldson *et al.* (2005) dressent un bilan des connaissances dans le domaine. Au niveau pulmonaire, il apparaît clairement que la toxicité est reliée au stress oxydatif causé par la présence de métaux de transition, d'une fraction organique ou par une très haute surface spécifique des poussières déposées. Ce stress oxydatif peut conduire à l'activation de cellules épithéliales. La section sur les fullerènes permettra de constater que des effets toxiques de ces nouvelles molécules sur les cellules sont également reliés à un mécanisme de stress oxydatif. Par ailleurs, les personnes qui souffrent de bronchite obstructive chronique ou d'asthme (entre autres) sont déjà soumises à un stress oxydatif (Hervé-Bazin, 2005). L'exposition aux

poussières ultrafines pourrait donc avoir des conséquences importantes sur la santé, particulièrement pour les individus présentant une susceptibilité biologique.

Des études animales sur des particules ultrafines ont démontré de l'inflammation pulmonaire avec changement histopathologique et une translocation des particules vers des tissus extra-pulmonaires. La translocation de particules inhalées ultrafines dans la circulation sanguine pourrait affecter la fonction endothéliale et promouvoir la thrombose et d'autres problèmes du système sanguin dont une coagulation sanguine accrue (Elder *et al.*, 2000, 2002, 2004; Nemmar *et al.*, 2002a; Kreyling *et al.*, 2002; Zhou *et al.*, 2003). Ce phénomène a été démontré chez le hamster (Nemmar *et al.*, 2002b, 2003) mais cette situation demeure ambiguë chez l'homme.

Chez l'homme, des études épidémiologiques de même que des études sur volontaires ont démontré que le niveau de particules inhalées a des effets directs sur la physiologie cardiovasculaire avec des altérations du rythme cardiaque, du diamètre artériel et de la viscosité du plasma. D'ailleurs, plusieurs études épidémiologiques (Seaton *et al.*, 1995; Peters *et al.*, 1997, 2001; Wichmann *et al.*, 2000; MacNee et Donaldson, 2000; Samet *et al.*, 2000; Utell et Frampton, 2000; Penntinen *et al.*, 2001; Bateson et Schwartz, 2001; Oberdorster 2001; Pekkamén *et al.*, 2002; Wichmann 2003a, b; Pope *et al.*, 2004; Kreyling *et al.*, 2004; Peters, 2005; Brunekreef *et al.* 2005; Dominici *et al.* 2006) ont mis en évidence, et de manière significative, une relation directe entre l'exposition aux poussières ultrafines, de dimensions nanométriques, et des effets respiratoires et cardio-vasculaires. Dans ces cas, les auteurs ont démontré qu'une augmentation du niveau de pollution de l'air en fines particules, provenant principalement des émissions de véhicules, conduisait à un accroissement de la morbidité et de la mortalité de populations plus sujettes aux problèmes respiratoires et cardiaques (Dockery, 1994; Schwartz *et al.* 1994, 1995; Bruske-Hohlfeld *et al.*, 2005). Des études cliniques contrôlées en laboratoire ont par ailleurs révélé une déposition des poussières ultrafines tout le long de l'arbre pulmonaire, le tout accompagné de problèmes cardiovasculaires (Brown *et al.*, 2002; Daigle *et al.*, 2003; Pietropaoli *et al.*, 2004; Oberdörster, 2005a, 2005b). Un symposium d'experts tenu en octobre 2005 (Mossman *et al.* 2007) a conclu que les problèmes pulmonaires ou cardiaques reliés à une surexposition aux poussières ultrafines sont reliés en partie à des facteurs génétiques et en partie à des conditions environnementales. Des études chez des mineurs du charbon exposés à des poussières ultrafines ont démontré l'accumulation de telles poussières au niveau du foie et de la rate (Donaldson, 2005). L'accumulation était plus élevée chez les mineurs ayant des problèmes pulmonaires sévères, suggérant ainsi que des poumons endommagés ou avec d'importants dépôts favorisent le passage des particules ultrafines vers le système sanguin. Une étude préliminaire chez la souris avec un métalofullerène (Zhao *et al.* 2007a) suggère que cette NP induit des décès par thrombo-embolie. Des études additionnelles sont néanmoins requises pour comprendre le mécanisme en cause.

Les particules ultrafines pourraient aussi être à l'origine de réactions auto-immunes. Elles agiraient alors comme des haptènes en modifiant la structure des protéines, altérant ainsi leurs propriétés et les rendant possiblement antigéniques (Donaldson *et al.*, 2006; Nel *et al.*, 2006).

Les poussières ultrafines, de mêmes dimensions que les NP, pénètrent donc principalement dans l'organisme à travers l'inhalation et se déposent dans les poumons, une partie pouvant se distribuer directement au cerveau via les nerfs olfactifs. Les poumons ne réussissent pas nécessairement à éliminer totalement ces particules indésirables qui causent alors de l'inflammation pulmonaire pouvant conduire au développement de certaines maladies pulmonaires spécifiques à la nature des poussières les ayant causées. De plus, ces poussières ultrafines peuvent franchir les différentes barrières de protection pulmonaire, atteindre le système sanguin et être distribuées dans toutes les parties du corps où elles pourront causer des dommages

de différentes natures. Oberdörster (2005c) résume les effets sur l'organisme de l'inhalation de poussières ultrafines de dimensions nanométriques. Les particules qui ont subi une translocation peuvent alors induire divers dommages dans différentes parties de l'organisme. La figure 2 résume les effets potentiels des particules ultrafines inhalées.

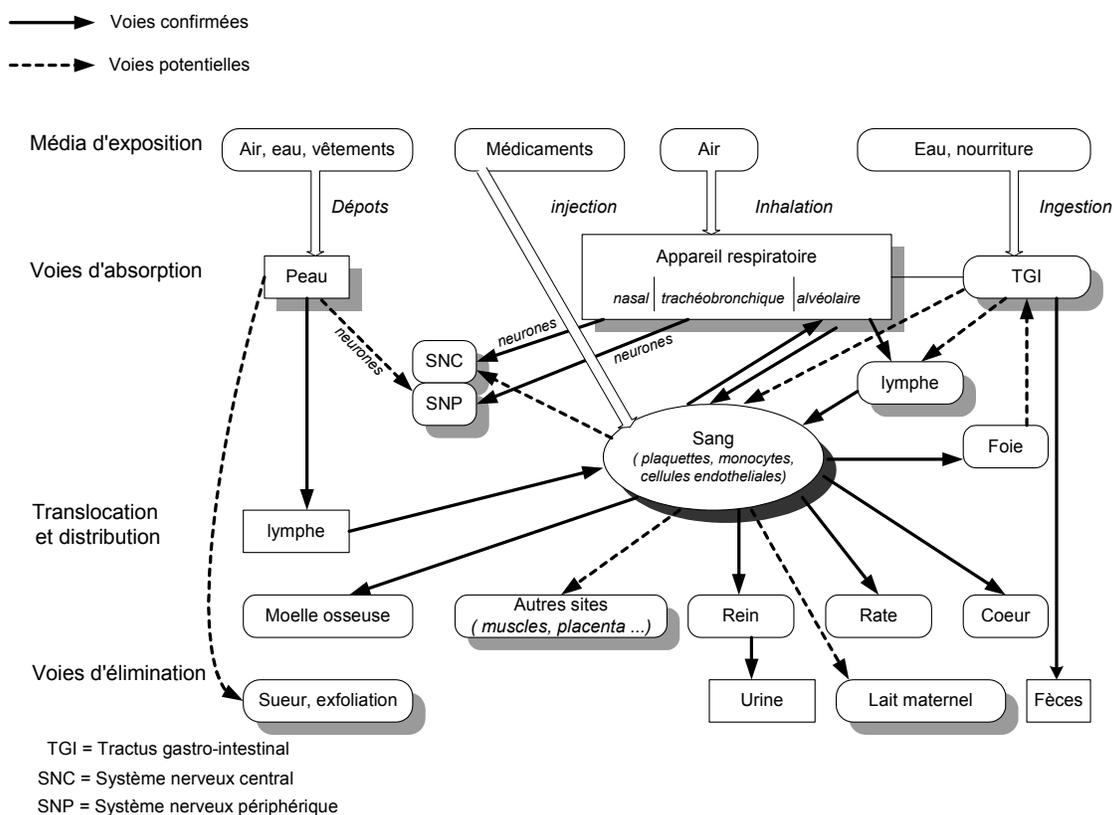


Figure 2 : Effets potentiels des particules ultrafines inhalées (Reproduit avec permission du Dr Gunter Oberdörster, 2005c).

De nombreux organismes internationaux sont préoccupés par les risques pour la santé reliés aux NP. Parmi les documents préparés pour ces organismes et disponibles, on peut retrouver Aitken *et al.* (2004), Arnall (2003), Bodegal *et al.* (2003), Christiansen (2004), Commission européenne (2004), Dreher (2003), Durrenberger *et al.* (2004), Feigenbaum *et al.* (2004), Health and Safety Executive, (2004), Hoet *et al.* (2004b), Lamy (2005), Malsch *et al.* (2004), Mark D (2005), Morrison *et al.* (2003), Oberdörster *et al.* (2000), Royal Society and Royal Academy of Engineering (2004), Ostiguy *et al.*, (2006a, 2006b), AFSSET (2006), Zhao et Nalwa (2007a). Le présent rapport vise à mettre à jour le rapport IRSST publié en 2006 (Ostiguy *et al.*, 2006a) en regroupant les principales informations actuellement disponibles sur le sujet et en les présentant par type de NP à partir de l'étude des articles originaux et de documents synthèse.

2. OBJECTIFS

Ce rapport vise à répertorier les principaux articles originaux et quelques documents synthèse publiés dans la littérature scientifique, jusqu'à l'été 2007, et portant sur l'étude de la toxicité des NP synthétisées pour utilisation en nanotechnologie. Les informations recueillies et résumées seront regroupées selon les grandes catégories de NP. Elles seront également utilisées dans la mise à jour du chapitre 6 du bilan des connaissances portant sur « *Les nanoparticules : connaissances actuelles sur les risques et les mesures de prévention en santé et en sécurité du travail* » et produit par notre équipe (Ostiguy *et al.*, 2008a).

3. MÉTHODOLOGIE

L'identification des articles dans les revues avec comités de pairs et ayant trait à toxicité des NP a été réalisée à partir d'une analyse de la littérature scientifique à travers les approches couramment utilisées pour ce type de recherche, dans différentes bases de données, par l'informathèque de l'IR SST et le centre de documentation de la Commission de la santé et de la sécurité du travail (CSST). La littérature est couverte de façon exhaustive jusqu'à l'été 2007. Parmi les principales bases de données et moteurs de recherche consultés, il convient de mentionner MedLine, Toxline, PubMed, Inspec, Copernic, Embase, Ntis, Ei, Compendex, SciSearch, Pascal, Alerts, Teoma et Scirus. Afin de couvrir un spectre aussi large que possible, les mots-clés suivants ont été retenus : nanotechnology, nanotechnologie, nanoparticules, nanoparticules, nanomatériaux, nanomaterials, nanotoxicity, nanotoxicité, fullerènes, fullerenes, nanotubes, quantum dots, point quantiques, nanocristaux, drug delivery, ultrafine particles, nanomedicine et nanomédecine.

La revue de littérature ciblait spécifiquement les NP manufacturées et produites à des fins commerciales. Dans un tel contexte, les poussières ultrafines telles les fumées de silice, les émissions de moteurs diesels ou les fumées de soudage n'ont pas été retenues de même que les produits pour lesquels d'importantes revues de littérature existent déjà. C'est le cas notamment pour le bioxyde de titane ou le noir de carbone.

Le contenu des différents articles, originaux ou de synthèse, a été résumé. Toutefois, dans la plupart des cas, une analyse comparative d'articles portant sur un même aspect n'aurait pu être réalisée à cause du peu d'informations publiées et discutant des mêmes NP analysées de façon identique. Compte tenu de l'importante diversité des NP étudiées et du nombre restreint d'informations disponibles les concernant, elles ont été regroupées par grandes catégories : fullerènes, nanotubes de carbone, points quantiques, NP organiques, NP inorganiques, etc... De nombreuses publications portent sur l'utilisation biopharmacologique des nanomatériaux à des fins thérapeutiques ou diagnostiques. Bien qu'elles nous renseignent sur plusieurs aspects de la toxicologie de certains nanomatériaux, l'intégration et la généralisation de ce matériel doivent être opérées avec prudence. En effet, ces nanomatériaux sont développés dans une perspective de traitement ou d'investigation diagnostique, précisément pour ne pas produire de toxicité pour l'humain. Par conséquent, lorsque des publications traitaient d'aspects toxicologiques qui semblaient particulièrement pertinents à notre recherche, nous les avons incluses. Les études retenues demeurent également utiles pour l'évaluation du risque des travailleurs du secteur industriel biopharmaceutique.

4. LES EFFETS DES FULLERÈNES SUR LA SANTÉ

Les fullerènes sont des cages sphériques contenant de 28 à plus de 100 atomes de carbone. La forme la plus étudiée, synthétisée pour la première fois en 1985 (Kroto *et al.*), contient 60 atomes de carbone, le C₆₀ (Holister *et al.*, 2003). C'est un ballon creux constitué de pentagones et d'hexagones de carbone interreliés, à l'image d'un ballon de soccer (Holister *et al.*, 2003; Hett, 2004). Les fullerènes constituent une nouvelle classe de matériaux démontrant des propriétés uniques. Ils peuvent être soumis à des pressions extrêmes et retrouver leur forme originale lorsque la pression est relâchée. Non modifiées, ces molécules ne se combinent pas entre elles. Par contre, lors de la fabrication de fullerènes, certains atomes de carbone peuvent être remplacés par d'autres atomes et former des molécules qui peuvent se lier, produisant ainsi un matériau dur mais élastique. On peut modifier la composition chimique en surface et y greffer différentes chaînes organiques ou les incorporer à des nanotubes de carbone (voir chapitre 5). Les fullerènes étant des structures vides aux dimensions semblables à plusieurs molécules biologiquement actives, ils peuvent être remplis de différentes substances et trouver ainsi différentes applications (Holister *et al.*, 2003). Parmi les nombreuses applications biomédicales envisagées, il a été démontré que les fullerènes peuvent être d'excellents capteurs de radicaux libres (Krusic *et al.* 1991). Des fullerènes chimiquement modifiés sont également considérés comme vecteurs de médicaments, agents neuroprotecteurs, antiviraux, antibactériens, antitumoraux, anti-apoptiques et antioxydants (Fiorito 2007).

4.1. La toxicocinétique

4.1.1 L'absorption

Une étude de Scrivens et Tour (1994) citée par Monteiro-Riviere et Inman (2006) sur l'absorption de C₆₀ non modifié marqué au ¹⁴C par des kératinocytes humains a montré une rétention d'environ 50 % du C₆₀ après 6 h. Toutefois, on ne sait pas si le C₆₀ a réellement été absorbé ou s'il a été uniquement adsorbé à la surface des cellules.

Dans une étude visant à établir si les macrophages monocytes humains peuvent internaliser les NP, Porter *et al.* (2006) ont démontré que des NP de C₆₀ s'accumulaient le long de la membrane nucléaire et dans le noyau. Leurs travaux soutiennent l'hypothèse que la toxicité du C₆₀ serait due, tout au moins en partie, à la peroxydation des lipides causée par la génération de radicaux libres aux membranes cellulaires. Les C₆₀ ont également été trouvés dans certaines organelles intracellulaires tels les lysosomes, le cytoplasme libre et le noyau, ce qui suggère que des sites intracellulaires pourraient également jouer un rôle dans la peroxydation. Les chercheurs émettent l'hypothèse que si les NP pénètrent dans le noyau, elles pourraient en endommager l'ADN.

4.1.2. La distribution

4.1.2.1. L'exposition par voie respiratoire

Aucune donnée

4.1.2.2. L'exposition cutanée

Aucune donnée

4.1.2.3. L'exposition par ingestion

Aucune donnée

4.1.2.4. L'exposition par d'autres voies

Rajagopalan *et al.* (1996) ont étudié la pharmacocinétique d'un fullerène soluble dans l'eau, le p, p'-bis(2-aminoéthyl)-diphényl-C₆₀, administré chez le rat par voie intraveineuse (15 et 25 mg/kg). L'injection de 25 mg/kg a causé le décès des deux rats testés en 5 minutes. Chez cinq autres rats, une dose de 15 mg/kg n'a entraîné aucun décès et a permis de mettre en évidence une liaison aux protéines plasmatiques supérieure à 99 %, une distribution tissulaire et l'absence d'un mécanisme de clairance rénale.

Tschiya *et al.* (1996) ont montré que le C₆₀ administré de façon intra-péritonéale à 50 mg/kg au jour 18 de la gestation se distribue dans tout l'embryon et le sac vitellin de la souris 18 h après l'injection. Il traverse donc la barrière placentaire.

Une étude préliminaire faite par Moussa *et al.* (1997) a permis de montrer que le fullerène C₆₀ pouvait être détecté dans le sang, le foie et la rate chez des souris un, deux et six jours après une injection intrapéritonéale (0,5 mL/20 g).

Dans une étude de Yamago *et al.* (1995) citée par Oberdörster *et al.* (2005b) sur des rats exposés par voie intraveineuse, 90 % des fullerènes C₆₀ fonctionnalisés et radiomarqués (solubilisés dans l'eau à l'aide de polyéthylène glycol et d'albumine ; 9,6 kBq dans ~50 µL) étaient toujours présents dans l'organisme une semaine après l'administration, dont 73-80 % dans le foie. Des fractions de la dose ont également été retrouvées dans la rate (jusqu'à 2%), les poumons (jusqu'à 5%), les reins (jusqu'à 3%), le cœur (~ 1%) et le cerveau (~ 0,84%) (Fiorito *et al.*, 2006a, b).

4.1.2.5. *In vitro*

Aucune donnée

4.1.3. Le métabolisme

Le fullerène C₆₀ peut diminuer l'activité enzymatique hépatique du glutathion (glutathione-S-transférase, glutathione peroxydase et glutathione réductase) *in vitro* chez l'humain (foie provenant d'une autopsie), les souris et les rats (Iwata *et al.*, 1998).

4.1.4. L'excrétion

Dans l'étude de Yamago *et al.* (1995), 98 % des fullerènes C₆₀ fonctionnalisés et radiomarqués (18 kBq dans 100 µL), mais administrés par voie orale ont été retrouvés dans les fèces 48 h après l'administration (Oberdörster *et al.*, 2005b). Les 2 % restants ont été éliminés dans l'urine, ce qui indique qu'il a pu atteindre la circulation sanguine (Oberdörster *et al.*, 2005b).

Rajagopalan *et al.* (1996) ont étudié la pharmacocinétique d'un fullerène soluble dans l'eau, le p, p'-bis(2-aminoéthyl)-diphényl-C₆₀, administré chez le rat par voie intraveineuse (15 et 25 mg/kg). Les auteurs ont rapporté l'absence d'un mécanisme de clairance rénale.

4.2. Les effets selon les voies d'exposition (administration)

4.2.1. L'exposition par voie respiratoire

Le National Toxicology Program (NTP) aux États-Unis étudie présentement la toxicité pulmonaire des fullerènes C₆₀ suite à une exposition par inhalation ou instillation intratrachéale (Bucher, 2006). Les résultats de cette étude n'étaient pas disponibles au moment de rédiger le présent document.

4.2.2. L'exposition cutanée

4.2.2.1. Les effets sur les organes

Aucune donnée

4.2.2.2. Les effets immunologiques et allergiques

Aucune donnée

4.2.2.3. Les effets sur la reproduction et le système reproducteur

Aucune donnée

4.2.2.4. Les effets sur le développement

Aucune donnée

4.2.2.5. Les effets génotoxiques

Aucune donnée

4.2.2.6. Les effets cancérogènes

Il n'y a pas eu d'effet sur la synthèse d'ADN lors de l'application de fullerènes C₆₀ sur la peau de souris (200 µg pendant 72 h), mais une faible augmentation de l'activité de l'ornithine décarboxylase (enzyme ayant un rôle dans la promotion des tumeurs) a été notée dans l'épiderme (Nelson *et al.*, 1993). De plus, aucune augmentation des tumeurs cutanées n'a été observée lors d'une étude subchronique (24 semaines) d'initiation et de promotion de la cancérogenèse.

4.2.2.7. Les effets cellulaires et humoraux

Aucune donnée

4.2.3. L'exposition par ingestion

Chen *et al.* (1998b) ont effectué une étude de la toxicité aiguë et subaiguë du C₆₀ polyalkylsulfonate chez le rat. Aucune mortalité n'a été observée lors d'un essai de détermination de la DL₅₀ par la voie orale (0 et 2500 mg/kg).

4.2.4. L'exposition par d'autres voies

4.2.4.1. Les effets sur les organes

Oberdörster (2004) a exposé des achigans à grande bouche (*Micropterus salmoides*) à des fullerènes hydrosolubles (nC₆₀). L'auteur a observé une peroxydation des lipides dans le cerveau et une diminution du glutathion dans les branchies des poissons après 48 h d'exposition à une concentration de 0,5 ppm. Ces résultats sont toutefois controversés. Selon Andrievsky *et al.* (2005), les effets biologiques négatifs observés par Oberdörster (2004) sont associés à la présence d'une grande quantité d'impuretés. Les particules testées par

Oberdörster (2004) contiendraient environ 10 % d'impuretés organiques, notamment du tétrahydrofurane utilisé comme solvant. Selon Andrievsky *et al.* (2005), les fullerènes C₆₀ purs sont non toxiques et les solutions aqueuses de fullerènes hydratés (C₆₀•nH₂O) démontrent des activités biologiques positives (par exemple une activité antioxydante).

4.2.4.1.1. Les effets sur la peau et les muqueuses

Aucune donnée

4.2.4.1.2. Les effets sur le système respiratoire

Chen *et al.* (2004) ont étudié le potentiel antioxydant de dérivés de fullerènes sur des poumons de rats (Wistar) isolés soumis à l'ischémie reperfusion qui est responsable de la production d'espèces réactives de l'oxygène (Chen *et al.*, 2004). L'augmentation de la pression artérielle et de la pression de filtration capillaire dans les poumons induite par le nitroprussiate de sodium pendant l'ischémie reperfusion a été corrigée par 10 mg/kg de fullerènes polyhydroxylés [C₆₀(OH)_{7 ± 2}] administrés par injection intrapéritonéale pendant 3 jours avant le début de l'étude.

Par instillation intratrachéale, Sayes *et al.* (2007a) ont exposé des rats à des concentrations de 0,2 à 3,0 mg/Kg de nano-C₆₀ et de C₆₀(OH)₂₄ en utilisant le quartz comme contrôle positif. L'analyse des biomarqueurs contenus dans les fluides prélevés par lavage broncho-alvéolaire et par une évaluation histopathologique des tissus après un jour, une semaine, un mois et trois mois, a montré une inflammation transitoire et des effets cellulaires identiques aux contrôles une journée après l'exposition. Une augmentation de la peroxydation des lipides a été observée aux fortes doses (1,5 et 3,0 mg/kg) pour le nano C₆₀ après un et trois jours post-instillation. Aucun effet sur les tissus pulmonaires n'a été mesuré pour les deux produits à la plus forte concentration après trois mois. Par contre, le quartz a produit des réponses inflammatoires dose-dépendantes caractérisées par l'accumulation de neutrophiles et de macrophages alvéolaires de même que l'épaississement de tissus pulmonaires consistants avec le développement de fibrose pulmonaire. Ces essais *in vivo* démontrent un comportement tout à fait différent des résultats obtenus *in vitro* (Sayes *et al.*, 2004, 2005).

4.2.4.1.3. Les effets sur le foie

Aucune donnée

4.2.4.1.4. Les effets sur les reins

Chen *et al.* (1998b) ont effectué une étude de la toxicité aiguë et subaiguë du C₆₀ polyalkylsulfonate chez le rat. Alors qu'aucune mortalité n'a été observée lors d'un essai de détermination de la DL₅₀ par la voie orale (0 et 2500 mg/kg), une DL₅₀ approximative de 600 mg/kg a été déterminée par injection intra-péritonéale (0, 500, 750 et 1000 mg/kg) et une atteinte rénale a été observée chez les animaux décédés. Une étude par injection intraveineuse de 100 mg/kg a mis en évidence une néphropathie et une atteinte biochimique (diminution significative de la phosphatase alcaline et de la triacétylglycéról) deux semaines après l'administration, corroborant ainsi l'atteinte rénale observée suite à l'injection intra-péritonéale. Plusieurs effets ont été rapportés lors d'une étude de toxicité subaiguë de 12 jours par injection intra-péritonéale (0, 0,6, 6 et 60 mg/kg). Une diminution de la consommation d'eau et de l'alimentation, une diminution significative du poids corporel et de plusieurs organes (thymus et cœur), une

augmentation du poids de la rate et une augmentation significative de certains paramètres biochimiques sanguins (augmentation significative de l'aspartate aminotransférase et diminution significative du triacétylglycérol) ont été observés à 60 mg/kg. Une néphropathie a été observée à 6 et à 60 mg/kg.

4.2.4.1.5. Les effets sur le système gastro-intestinal

Aucune donnée

4.2.4.1.6. Les effets sur le cœur et la circulation sanguine

Aucune donnée

4.2.4.1.7. Les effets sur le sang et le système hématopoïétique

Bosi *et al.* (2004) ont étudié l'effet hémolytique de différents fullerènes C₆₀ hydrosolubles (dérivés de fulleropyrrolidine) sur des globules rouges humains *in vitro*. Les fullerènes comportant deux chaînes cationiques ont provoqué l'hémolyse de 40 à 50 % des cellules à des concentrations allant de 20 à 60 µM (incubation de 30 min.). La position de la chaîne cationique sur le C₆₀ semble avoir une influence sur le potentiel hémolytique. En effet, le dérivé possédant une chaîne cationique en position équatoriale a démontré un potentiel hémolytique plus élevé que les autres dérivés (à la même concentration). La position des charges cationiques détermine leur accessibilité à la surface des cellules (Hoet *et al.*, 2004a). Les fullerènes comportant des fonctions carboxyliques ou une seule chaîne cationique n'ont montré aucun effet hémolytique jusqu'à une concentration de 80 µM.

4.2.4.1.8. Les effets sur le système nerveux

Aucune donnée

4.2.4.2. Les effets immunologiques et allergiques

L'administration de C₆₀ (conjugué à de la thyroglobuline et de l'albumine) par injection intrapéritonéale chez la souris a provoqué une augmentation des anticorps spécifiques au C₆₀, les IgG (Chen *et al.*, 1998a). Les IgG jouent un rôle dans la défense contre l'infection.

4.2.4.3. Les effets sur la reproduction et le système reproducteur

Aucune donnée.

4.2.4.4. Les effets sur le développement

Une étude *in vitro* et *in vivo* des effets sur le développement de la souris a été faite par Tsuchiya *et al.* (1996). La présence de fullerènes C₆₀ solubilisés avec du polyvinyl pyrrolidone a inhibé la différenciation et la prolifération cellulaire de cellules mésencéphaliques *in vitro*. L'administration intra-péritonéale au onzième jour de la gestation a causé 100 % de mortalité et des anomalies de la flexion corporelle à 137 mg/kg, des malformations (région de la tête et de la queue) à 50 mg/kg et une augmentation du volume de la tête à 25 mg/kg. À 50 mg/kg, le C₆₀ était distribué dans tout l'embryon et le sac vitellin était atteint. Le C₆₀ traverse donc la barrière placentaire, perturbe le sac vitellin, cause de la mortalité intra-utérine ainsi que des malformations.

4.2.4.5. Les effets génotoxiques

Sera *et al.* (1996) ont observé une activité mutagène *in vitro* sur 3 souches de salmonelle exposées au fullerène C₆₀ et à la lumière visible en présence d'un système d'activation métabolique.

Zakharenko *et al.* (1997) n'ont observé aucun effet du fullerène C₆₀ lors d'un essai de « somatic mutation and recombination test » (SMART) *in vitro* sur *Escherichia coli* et d'un essai *in vivo* sur les larves de *Drosophila melanogaster*.

Babynin *et al.* (2002) ont testé l'activité mutagène de trois dérivés du fullerène C₆₀ sur *Salmonella thyphimurium* : le diméthoxyphosphoryl-carbéthoxy-méthano-fullerène, le diméthoxyphosphoryl-carbméthoxy-méthanofullerène et le 1-méthyl-2-(3,5-di-tertbutyl-4-hydroxy-phényl)-3,4-fulleropyrrolidine. Des résultats négatifs ont été obtenus pour le premier et le dernier alors que le second s'est avéré antimutagène.

Dhawan *et al.* (2006) ont préparé des dispersions colloïdales de C₆₀ dans l'eau et dans un mélange eau-éthanol en absence totale d'autre solvant organique. En utilisant des lymphocytes humains, ils ont mesuré une réponse génotoxique dose-dépendante à des concentrations aussi basses que 2,2 µg/L dans l'eau et 4,2 µg/L dans le mélange eau-éthanol.

4.2.4.6. Les effets cancérogènes

Les études concernant la génotoxicité des fullerènes ne sont pas suffisantes pour faire une évaluation adéquate de la cancérogénicité.

4.2.4.7. Les effets cellulaires et humoraux

L'exposition *in vitro* au fullerène C₆₀ (12,5 µg C₆₀-cyclodextrin) induit des dommages oxydatifs au niveau de microsomes hépatiques du rat. Ces dommages peuvent être modulés par les antioxydants et les piègeurs de radicaux libres (Kamat *et al.*, 1998).

La cytotoxicité photo-induite (lampe halogène) de fullerènes a été rapportée lors de plusieurs études. Yang *et al.*, (2002) ont montré que cette activité pouvait varier avec le nombre de molécules d'acide malonique ajoutées au fullerène C₆₀ (acide dimalonique, trimalonique ou quadrimalonique). L'inhibition de la croissance cellulaire d'origine phototoxique était, par ordre décroissant, plus grande pour le dimalonique, que pour le trimalonique et le quadrimalonique.

Sayes *et al.* (2004) ont étudié la cytotoxicité de quatre fullerènes hydrosolubles sur des cellules humaines *in vitro* (fibroblastes de la peau et cellules de carcinome hépatique ; 0,24 à 2400 ppb). Ils ont montré que la toxicité varie avec la nature du groupe fonctionnel. Les auteurs ont observé des concentrations léthales (CL₅₀) de 20 ppb avec le nano-C₆₀¹, 10 000 ppb avec le C₃, 40 000 ppb avec le Na⁺₂₋₃[C₆₀O₇₋₉(OH)₁₂₋₁₅]₍₂₋₃₎ et > 5 000 000 ppb avec le C₆₀(OH)₂₄ sur les fibroblastes de la peau. C'est la génération de radicaux oxygène (anion superoxyde) par les fullerènes qui serait responsable de dommages à la membrane cellulaire provoquant la mort des cellules (Sayes *et al.*, 2004). L'ajout de groupes

¹ Le nano-C₆₀ est un colloïde stable formé par l'ajout de C₆₀ dans l'eau et qui possède une structure cristalline ordonnée formée de C₆₀ non modifiés (Fortner *et al.*, 2005).

fonctionnels comme les hydroxyles ou carboxyles rendrait les fullerènes moins toxiques pour les cellules (Sayes *et al.*, 2004).

Chen *et al.* (2004) ont étudié le potentiel antioxydant de dérivés de fullerènes sur des macrophages de souris RAW 264.7. Les dommages induits aux macrophages par une exposition au nitroprussiate de sodium ou au peroxyde d'hydrogène ont été corrigés de façon dose-dépendante par une exposition préalable aux fullerènes polyhydroxylés [$C_{60}(OH)_{7\pm 2}$] (5-1,500 μ M). Toutefois, des concentrations de 1 et 1,5 mM de $C_{60}(OH)_{7\pm 2}$ ont provoqué la mort cellulaire (par apoptose ou nécrose, après 24 h).

Bosi *et al.* (2004) ont étudié les effets cytotoxiques de différents fullerènes C_{60} hydrosolubles (dérivés de fulleropyrrolidine) sur des cellules humaines de cancer du sein (MCF-7), des cellules de foie de rat (Hep-G2), des cellules de tubule rénal proximal de porc (LLC-PK₁) et des globules rouges. Les fullerènes comportant deux chaînes cationiques ont provoqué de la cytotoxicité à des concentrations allant de 1 à 50 μ M (après 30 minutes d'incubation). Les dérivés ayant un ratio surface hydrophobe/surface hydrophile relativement élevé semblent mieux tolérés par les globules rouges.

Sayes *et al.* (2005) ont étudié la cytotoxicité du nano- C_{60} sur des cellules humaines *in vitro* (fibroblastes de la peau, cellules de carcinome hépatique et astrocytes). Les cellules ont été exposées à des concentrations de 0,24, 2,4, 24, 240 et 2400 ppb pendant 48 h. Des cellules non traitées ou traitées avec une solution saline équilibrée ont servi de contrôles. Les auteurs ont déterminé des DL_{50} de 20, 50 et 2 ppb pour les fibroblastes de la peau, les cellules de carcinome hépatique et les astrocytes respectivement. Aucun changement dans l'activité mitochondriale et aucune différence dans la concentration en ADN des cellules n'ont été observés entre les contrôles et les cellules exposées à 2400 ppb de nano- C_{60} . Les auteurs ont noté des dommages à la membrane cellulaire ainsi qu'une augmentation du glutathion (antioxydant naturel) dans les cellules exposées à 240 ppb de nano- C_{60} . Aucun dommage oxydatif n'a été observé suite à l'ajout d'acide L-ascorbique (antioxydant) avec le nano- C_{60} dans le milieu de culture. La cytotoxicité du nano- C_{60} serait attribuable aux dommages causés à la membrane cellulaire par la peroxydation des lipides (Sayes *et al.*, 2005). Les auteurs supposent que le nano- C_{60} est à l'origine de la formation d'espèces réactives de l'oxygène.

Aucun effet du C_{60} sur la prolifération des kératinocytes humains ou des fibroblastes n'a été observé dans l'étude de Scrivens et Tour (1994) citée par Monteiro-Riviere et Inman (2006).

Le tableau 1 résume les informations existantes concernant les effets sur la santé des fullerènes. Celles-ci demeurent très limitées et incomplètes.

Tableau 1. Effets sur la santé documentés des fullerènes¹

Effet	Voie			
	Inhalation ²	Cutanée	Ingestion	Autres
Toxicocinétique			▲	▲■
Irritation				
Systemique ³				
Aigu			▲	▲
Intermédiaire				
Chronique				
Neurologique				
Immunologique				▲
Développement				▲
Reproduction				
Génotoxique				▲
Cancer		▲		

¹ Études existantes chez l'humain (■) ou l'animal (▲). Adapté de l'ATSDR.

² Incluant l'instillation intratrachéale.

³ Effet systémique : aigu (≤ 14 jours), intermédiaire (15 à 364 jours) et chronique (≥ 365 jours).

5. LES EFFETS DES NANOTUBES DE CARBONE SUR LA SANTÉ

Découverts depuis à peine quelques décennies, les nanotubes de carbone constituent une nouvelle forme de molécules de carbone. Enroulés dans un réseau hexagonal d'atomes de carbone, ces cylindres creux peuvent avoir des diamètres aussi petits que 0,7 nm et atteindre plusieurs millimètres de longueur (Hett, 2004). Chaque bout peut être ouvert ou fermé par une demi-molécule de fullerène. Ces nanotubes peuvent avoir une seule paroi (comme une paille ; on parle alors de SWCNT pour *Single Wall Carbon NanoTubes*) ou plusieurs parois (il s'agit dans ce cas de MWCNT pour *Multi Wall Carbon NanoTubes*) de cylindres coaxiaux de diamètres croissants dans un axe commun (Iijima, 1991). Les nanotubes de carbone multiparois peuvent atteindre des diamètres de 20 nm (Aitken *et al.*, 2004). De plus, ils sont chimiquement et thermiquement très stables (Hameed Hyder, 2003). Leur fabrication implique normalement la présence de métaux dont la teneur finale dans le produit sera fonction des conditions de synthèse et de la purification subséquente du produit. La présence de ces métaux (par exemple Co, Fe, Ni, Mo) qui peuvent représenter jusqu'à 50 % du contenu en poids est en mesure d'influencer de façon déterminante la toxicité des nanotubes de carbone (Donaldson *et al.*, 2006 ; Lam *et al.*, 2006 ; Maynard *et al.*, 2004). Maynard *et al.* (2004), soulignent qu'il est possible que la couche de carbone qui enrobe invariablement les particules puisse être altérée pendant la phagocytose et/ou d'autres processus biologiques. Les procédés de dispersion des nanotubes employés dans les études expérimentales (par exemple la sonification) peuvent aussi conduire à la libération de métaux (Lam *et al.*, 2006).

On considère qu'un nanotube de 20 x 2000 nm peut avoir 100 fois plus de surface qu'une NP sphérique de 20 nm de diamètre (Donaldson *et al.*, 2006). Cela peut représenter un facteur important dans la toxicité des nanotubes. Par ailleurs, les nanotubes de carbone ont une forte propension à s'agglomérer, ce qui pourrait diminuer de façon significative la surface totale pouvant interagir avec les cellules de l'organisme (Donaldson *et al.*, 2006).

Les développements récents permettent également de considérer plusieurs applications médicales pour des nanotubes de carbone chimiquement modifiés dont une utilisation comme implants dans la préparation de prothèses orthopédiques, comme biosenseur pour la détection de protéines et d'enzymes, dans la thérapie anticancer, en ingénierie tissulaire et comme matériau de support pour la croissance osseuse facilitant la guérison de fractures (Fiorito 2007).

Lorsque produits, les nanotubes de carbone représentent une matrice complexe composée de nanotubes de carbone, d'agglomérats de nanotubes (nanofils de carbone), de carbone non tubulaire et de catalyseurs métalliques (Maynard *et al.*, 2007). La toxicité du matériel auquel le travailleur sera exposé sera fonction de la partition et de l'arrangement de ces particules dans le milieu de travail.

5.1 La toxicocinétique

5.1.1. L'absorption

Dans une étude de Kam *et al.* (2004) citée par Monteiro-Riviere et Inman (2006), des SWCNT et des SWCNT conjugués à de la streptavidine (utilisée comme indicateur) ont été internalisés par endocytose dans des cellules humaines de leucémie aiguë promyélocytaire (HL60) et des cellules T (Jurkat) humaines.

5.1.2. La distribution

5.1.2.1. L'exposition par voie respiratoire
Aucune donnée

5.1.2.2. L'exposition cutanée
Aucune donnée

5.1.2.3. L'exposition par ingestion

Les SWCNT hydroxylés administrés par gavage chez la souris (100 µL d'une solution de 15 µg/mL) se sont distribués dans la majorité des organes et tissus, à l'exception du cerveau (Wang *et al.*, 2004).

5.1.2.4. L'exposition par d'autres voies

L'étude de Wang *et al.* (2004) montre chez la souris que les SWCNT hydroxylés radiomarqués administrés par la voie intrapéritonéale (100 µL d'une solution de 15 µg/mL) se distribuent dans tout l'organisme, à l'exception du cerveau, qu'ils traversent plusieurs compartiments et sont retenus dans les os. Cette distribution n'a pas été affectée par les autres voies utilisées (intraveineuse, sous-cutanée et gavage).

5.1.2.5. *In vitro*

Pantarotto *et al.* (2004) ont étudié le transport intracellulaire de SWCNT fonctionnalisés, c'est-à-dire conjugués avec de la lysine, sur des fibroblastes humains et de souris *in vitro* (1, 5 et 10 mM). Ils ont démontré qu'ils pouvaient traverser la membrane cellulaire, s'accumuler dans la cellule et se retrouver dans le noyau de la cellule.

Cherukuri *et al.* (2004) ont montré que les nanotubes de carbone (1 nm de diamètre par 1 µm de longueur) pouvaient être ingérés par les macrophages péritonéaux de la souris *in vitro*.

Monteiro-Riviere *et al.* (2005b) ont retrouvé des MWCNT dans les vacuoles cytoplasmiques de kératocytes épidermiques humains *in vitro* (jusqu'à 3,6 µm de long), une diminution de la viabilité des cellules et une augmentation significative d'un marqueur d'inflammation (interleukine-8). Les MWCNT sont donc en mesure de pénétrer dans la cellule. Les auteurs soulignent que le fer n'est pas impliqué dans l'augmentation de l'IL-8 puisque l'analyse des particules a révélé que les MWCNT n'en contenaient pas. Le fer a été utilisé comme catalyseur dans la synthèse des MWCNT (par déposition en phase vapeur), mais l'analyse des MWCNT à l'aide de deux techniques différentes n'a pas permis de détecter sa présence dans les MWCNT avant et après l'exposition.

5.1.3. Le métabolisme

Aucune donnée

5.1.4. L'excrétion

Lors de l'étude de Wang *et al.* (2004), 11 jours après l'exposition, environ 80 % des SWCNT hydroxylés radiomarqués administrés par la voie intrapéritonéale avaient été excrétés (94 % dans l'urine et 6 % dans les fèces).

Muller *et al.* (2005) ont étudié la persistance des MWCNT ($5,9 \pm 0,05 \mu\text{m}$ de longueur ; $9,7 \pm 2,1 \text{ nm}$ de diamètre extérieur) et des MWCNT broyés ($0,7 \pm 0,07 \mu\text{m}$ de longueur ; $11,3 \pm 3,9 \text{ nm}$ de diamètre extérieur) dans les poumons de rats (femelles Sprague-Dawley) exposés par instillation intratrachéale unique (0,5, 2 et 5 mg). À la plus faible dose (0,5 mg), 80 % des MWCNT et 40 % des MWCNT broyés ont été retrouvés dans les poumons 60 jours après l'administration. Le nombre d'animaux n'a pas été spécifié. Les auteurs concluent que les nanotubes de carbone sont persistants dans les poumons et que la cinétique de leur clairance est influencée par leur longueur. Toutefois, Donaldson *et al.* (2006) soulignent que les fibres étudiées par Muller *et al.* (2005) sont nettement plus courtes que les fibres minérales considérées comme longues et mesurant près de $20 \mu\text{m}$.

Les macrophages sont efficaces pour phagocyter les nanotubes de carbone inhalés dont la longueur se situe en dessous de $15\text{-}20 \mu\text{m}$ (Donaldson *et al.*, 2006). Les agrégats seraient également plus facilement phagocytés que les nanotubes de carbone non agrégés (Donaldson *et al.*, 2006).

5.2. Les effets selon les voies d'exposition (administration)

5.2.1. L'exposition par voie respiratoire

5.2.1.1. Les effets sur les organes

5.2.1.1.1. Les effets sur la peau et les muqueuses

Aucune donnée

5.2.1.1.2. Les effets sur le système respiratoire

Une étude exploratoire de la fonction pulmonaire a été faite chez le cochon d'Inde (2 groupes de 5 mâles) par Huczko *et al.* (2001b). Une seule dose de 25 mg de suie contenant des nanotubes de carbone a été administrée par instillation intratrachéale. Aucun effet sur la fonction pulmonaire (volume courant, fréquence respiratoire et résistance pulmonaire) et l'analyse du liquide provenant du lavage broncho-alvéolaire n'a été observé (après 4 mois). Toutefois, Lam *et al.* (2006) mentionnent que l'étude pathologique des poumons n'a pas été faite et que ce critère d'évaluation est crucial dans toute étude sur la toxicité pulmonaire impliquant des poussières.

Lam *et al.* (2004a) ont étudié la toxicité pulmonaire de l'exposition aiguë à trois préparations de SWCNT chez la souris mâle (instillation intratrachéale unique; 0, 0,1 et 0,5 mg/souris). Aucun signe clinique (température corporelle, piloérection, et autres) n'a été observé à 0,1 mg mais il y a eu de l'inflammation et des granulomes pulmonaires pour les nanotubes non raffinés (RNT) et les nanotubes purifiés (PNT). Les granulomes étaient composés de macrophages et de particules administrées (à 0,1 et 0,5 mg). Il y a eu une augmentation de la mortalité pour les NTC de Carbolex, mais aucune mortalité pour les RNT et les PNT. Des signes cliniques ont été observés à 0,5 mg pour les RNT (hypothermie, inactivité et autres), mais aucun pour les PNT. Les auteurs ont rapporté une augmentation des granulomes pulmonaires pour les RNT, les PNT et les NTC. Le noir de carbone et le quartz ont été utilisés comme contrôles; il n'y a eu aucune inflammation et aucun granulome pour le noir de carbone, mais de l'inflammation et aucun

granulome pour le quartz. Il n'y avait par ailleurs que 4 ou 5 animaux par traitement.

Warheit *et al.* (2004, 2005) ont étudié la toxicité pulmonaire de l'exposition aiguë à une préparation de SWCNT chez le rat mâle (instillation intratrachéale unique; 0, 1 et 5 mg/kg). Il n'y a pas eu d'effet à 1 mg/kg. À 5 mg/kg, ils ont rapporté un taux élevé de mortalité (~15 %) causé par un blocage mécanique des voies respiratoires supérieures, une augmentation non statistiquement significative de la prolifération cellulaire pulmonaire ainsi qu'une augmentation des granulomes pulmonaires à caractère multifocal. Une augmentation significative du poids des poumons, une augmentation significative passagère des anomalies du lavage broncho-alvéolaire (cellules neutrophiles, protéines, lactate déshydrogénase (LDH)) ont également été observées. Il n'y a eu aucun effet sur les macrophages pulmonaires. Le nombre de rats n'a pas été mentionné. La durée d'observation post-instillation était trop courte pour évaluer l'évolution des lésions pulmonaires et leur éventuelle régression. De plus, les nanotubes ont tendance à s'agglomérer formant ainsi des particules plus grosses dont la toxicité pulmonaire pourrait être différente des nanotubes non agglomérés. On ne peut conclure quant à la toxicité inhérente aux SWCNT (absence de relation dose-réponse, distribution non uniforme et régression possible des granulomes).

Shvedova *et al.* (2005) ont exposé des souris (C57BL/6) à des SWCNT purifiés (99,7% carbone et 0,23% fer en poids) par aspiration pharyngée (dose unique ; 0, 10, 20 et 40 µg/souris). Les auteurs ont observé des effets pulmonaires inhabituels incluant une inflammation aiguë suivie de la formation rapide et progressive de granulomes et de fibrose (relation dose-dépendante). Shvedova *et al.* (2005) ont associé la fibrose du tissu interstitiel et l'épaississement des parois des alvéoles aux SWCNT non agglomérés alors que la formation des granulomes a été associée à des cellules épithéliales hypertrophiées entourant des agglomérats de SWCNT. L'analyse du liquide provenant du lavage broncho-alvéolaire a montré une augmentation des protéines, de la LDH et de l'activité de la γ -glutamyl transférase (indicateurs de dommages cellulaires ; relation dose-dépendante). L'accumulation d'un marqueur de stress oxydatif (4-hydroxynonanal) et une diminution du glutathion (antioxydant) dans les poumons ont également été notées. Une accumulation de neutrophiles et une augmentation des cytokine proinflammatoires (TNF- α , IL-1 β) ont été observées au jour 1, mais les niveaux de TNF- α et de IL-1 β sont retournés près du niveau des contrôles 3 jours après l'exposition. L'accumulation de lymphocytes (jour 3) a été suivie par une accumulation de macrophages et de TGF- β 1 (facteur de croissance impliqué dans la fibrogenèse) (jour 7). Des troubles de la fonction respiratoire, une diminution de l'élimination des bactéries (*Listeria monocytogenes*) et une augmentation des cellules alvéolaires de type II (AT-II) ont aussi été observées. Des particules ultrafines de noir de carbone et de SiO₂ n'ont pas provoqué la formation de granulomes ou l'épaississement des parois des alvéoles à la même dose (40 µg/souris) et la réponse inflammatoire a été moins marquée qu'avec les SWCNT (Shvedova *et al.*, 2005). La dose de 20 µg de SWCNT équivaut à la déposition pulmonaire résultant de l'exposition d'un travailleur à la limite d'exposition permise (PEL) de l'OSHA pour le graphite (5 mg/m³) pendant 20 jours (8 h par jour). Les auteurs concluent que des travailleurs exposés à une telle concentration de SWCNT peuvent être à risque de développer des lésions pulmonaires.

Muller *et al.* (2005) ont étudié l'inflammation et la fibrose dans les poumons de rats exposés à des MWCNT non broyés et des MWCNT broyés (instillation intratrachéale unique ; 0,5, 2 et 5 mg). Les deux types de MWCNT ont provoqué une réaction inflammatoire (augmentation de l'activité de la LDH, des protéines, des neutrophiles et des éosinophiles) et fibrotique (augmentation de la déposition de collagène) ainsi que la production de cytokine proinflammatoires (TNF- α) dans les poumons. La réponse inflammatoire a été plus prononcée avec les MWCNT broyés, mais une dose de 5 mg de MWCNT broyés a induit la même réponse fibrotique que 2 mg de MWCNT non broyés. Par ailleurs, les auteurs ont observé une plus grande dispersion des MWCNT broyés à travers le parenchyme pulmonaire où ils ont causé des granulomes dans le tissu interstitiel. L'accumulation d'agglomérats de MWCNT non broyés dans les voies respiratoires a provoqué l'obstruction partielle ou complète des bronches, la formation de granulomes riches en collagène ainsi qu'une inflammation des alvéoles (après 2 mois). L'administration de noir de carbone utilisé comme contrôle n'a pas induit d'inflammation ou de fibrose significative. Par contre, l'amiante (chrysotile rhodésien; 2,4 μm de longueur par 0,17 μm de largeur en moyenne) utilisée comme contrôle positif a provoqué les mêmes effets que les MWCNT. Les auteurs concluent que les MWCNT sont potentiellement toxiques pour l'homme et que des mesures strictes d'hygiène industrielle doivent être mises en place. Par ailleurs, Donaldson *et al.* (2006) soulignent que la plus grande toxicité des MWCNT broyés pourrait être attribuable à leur plus grande dispersion dans les poumons ou à l'activité de métaux présents dans les MWCNT et libérés par le broyage.

Huczko *et al.* (2005) ont exposé des cochons d'Inde (5 à 10 animaux par groupe) à différents types de MWCNT par instillation intratrachéale (dose unique de 15 mg). Quatre-vingt-dix jours après l'administration, les auteurs ont observé une bronchiolite oblitérante avec organisation pneumonique accompagnée d'une réaction non spécifique ressemblant à une pneumonie interstitielle desquamative, mais sans fibrose ou avec une légère fibrose autour des bronchioles. Les auteurs ont également observé une augmentation de la résistance à la dilatation pulmonaire et une infiltration de l'espace broncho-alvéolaire par des cellules inflammatoires chez certains animaux. En plus d'une infiltration de cellules inflammatoires autour des vaisseaux, des bronchioles et dans l'espace interstitiel, une atélectasie² centrale et périphérique, de l'emphysème et une exsudation alvéolaire ont été observés. Des différences au niveau de ces effets ont été constatées selon le type de MWCNT administré. Des nanotubes ont été retrouvés à l'intérieur des macrophages alvéolaires. Les dimensions des MWCNT testés n'ont pas été précisées. Les auteurs concluent que la durée de l'exposition aux MWCNT administrés par instillation intratrachéale est cruciale pour induire des effets mesurables dans les poumons.

Muller *et al.* (2005) et Lam *et al.* (2006) soulignent que l'absence de lésions observée par Warheit *et al.* (2004, 2005) peut être due au fait que l'agglomération des SWCNT les a empêchés d'atteindre le site où se produisent les lésions, c'est-à-dire les alvéoles.

² L'atélectasie est un « affaissement des alvéoles pulmonaires alors qu'il y a absence de ventilation » (lexique du Service du répertoire toxicologique de la CSST, <http://www.reptox.csst.qc.ca/Lexique-A.htm>).

Kagan *et al.* (2006) soulignent que les effets inhabituels observés par Shvedova *et al.* (2005) (inflammation aiguë suivie de la formation rapide de fibrose) ont pu être causés par des changements dans le déroulement normal de la réponse inflammatoire dans laquelle les macrophages sont impliqués. Le fer contenu dans les SWCNT modifierait l'environnement redox des macrophages et influencerait leur réponse pro/anti-inflammatoire (Kagan *et al.*, 2006).

Grubek-Jaworska *et al.* (2006) ont étudié *in vivo* l'effet de l'instillation intratrachéale unique (12,5 mg) de quatre types de MWCNT et de SWCNT commercialement disponibles avec de très faibles teneurs en fer (<0,01 ppm) à des groupes de 4-5 cochons d'Inde. Après trois mois, ils ont remarqué que tous les NTC conduisaient à une pneumonite avec une réaction focale non-spécifique interstitielle ressemblant à de la pneumonie sans fibrose ou avec une faible fibrose péribronchiolaire chez tous les animaux exposés mais pas chez les contrôles. La concentration des IL-8 dans les fluides du lavage broncho-alvéolaire a augmenté pour un seul des 4 NTC. Le nombre de macrophages, de lymphocytes et de neutrophiles a significativement augmenté pour un autre des 4 NTC. Finalement, pour un troisième des 4 NTC, les auteurs ont mesuré une augmentation des macrophages et des éosinophiles. Il est intéressant de constater que les dépôts de carbone se situaient principalement au niveau des bronchioles et étaient presque totalement absents des conduits des alvéoles et des alvéoles. Les auteurs n'ont pas remarqué de granulomes dans le tissu pulmonaire. Ils ont également noté une tendance des nanotubes à former des agrégats (cordes/tiges) et des blocages mécaniques de certaines voies respiratoires ont été détectés chez certains animaux.

Les recherches actuelles suggèrent que dans le cas de nanotubes dont la longueur dépasse 20 µm et dont la concentration est suffisante, on peut s'attendre à rencontrer les mêmes types d'effets que ceux observés suite à une exposition à des fibres minérales biopersistantes (par exemple le chrysotile), c'est-à-dire la fibrose, le cancer, les changements dans la plèvre et le mésothéliome (Donaldson *et al.*, 2006).

5.2.1.1.3. Les effets sur le foie

Aucune donnée

5.2.1.1.4. Les effets sur les reins

Aucune donnée

5.2.1.1.5. Les effets sur le système gastro-intestinal

Aucune donnée

5.2.1.1.6. Les effets sur le cœur et la circulation sanguine

Li *et al.* (2005) ont exposé des souris (C57BL/6) à des nanotubes de carbone (NTC) par aspiration pharyngée (dose unique ; 0,5, 1 et 2 mg/kg). Les auteurs ont observé des dommages à l'ADN mitochondrial de l'aorte (paramètre dépendant du stress oxydatif ; relation dose-dépendante) 7, 28 et 60 jours après l'administration. Les dommages oxydatifs ont été accompagnés d'une altération dans l'expression des gènes responsables de la réponse inflammatoire dans le cœur (MCP-1 et VCAM-1). Selon Li *et al.* (2005), les effets observés dans le cœur des souris pourraient être un effet direct des NTC se retrouvant dans la circulation systémique ou un effet indirect de l'inflammation des poumons. Les effets cardiovasculaires observés suite à l'inhalation de particules pourraient aussi

être liés au système nerveux autonome (Hoet *et al.*, 2004a ; Seaton et Donaldson, 2005). Li *et al.* (2005) concluent que les NTC provoquent des effets qui peuvent être des facteurs de prédisposition à l'athérogénèse (formation de plaques d'athérosclérose dans les artères).

Li *et al.* (2006, 2007) ont exposé des souris ayant un taux élevé de cholestérol sanguin (ApoE^{-/-}) à des SWCNT par instillation pharyngée à des concentrations de 10 et 40 µg/souris. Ils ont noté une activation de l'hème oxygénase-1, un marqueur oxydatif dans le poumon, l'aorte et le tissu cardiaque, 7, 28 et 60 jours après l'exposition. Les souris ont développé des dommages de l'ADN aortique. Les auteurs (Li *et al.*, 2007) ont également évalué l'effet d'une exposition répétée chez 10 souris (20 µg à chaque 2 semaines pendant 8 semaines). Le pourcentage de la surface de l'aorte recouverte de plaques d'athérosclérose était significativement plus élevé chez les souris ayant été exposées aux SWCNT comparativement aux contrôles. Une augmentation significative des lésions athérosclérotiques dans les artères brachiocéphaliques a aussi été observée. Les auteurs concluent que l'exposition aux SWCNT accélère la progression de l'athérosclérose chez les souris ApoE^{-/-}.

5.2.1.1.7. Les effets sur le sang et le système hématopoïétique

Aucune donnée

5.2.1.1.8. Les effets sur le système nerveux

Aucune donnée

5.2.1.2. Les effets immunologiques et allergiques

Aucune donnée

5.2.1.3. Les effets sur la reproduction et le système reproducteur

Aucune donnée

5.2.1.4. Les effets sur le développement

Aucune donnée

5.2.1.5. Les effets génotoxiques

Aucune donnée

5.2.1.6. Les effets cancérogènes

Aucune donnée

5.2.1.7. Les effets cellulaires et humoraux

Manna *et al.* (2005) ont étudié la toxicité de SWCNT sur des cellules kératinocytes humaines. Les résultats montrent une augmentation du stress oxydatif et l'inhibition de la prolifération cellulaire suite à des expositions à des concentrations de 0,5 à 10 µg/mL pour des périodes de 12 à 72 heures, de même qu'une diminution dose-dépendante de la viabilité cellulaire. Les résultats obtenus suggèrent que les SWCNT activent le facteur de transcription NF-κB des kératinocytes de façon dose-dépendante et que le mécanisme d'activation serait relié à l'activation de kinases due au stress oxydatif. L'expression de protéines actives conduirait à une réponse inflammatoire.

Selon Donaldson *et al.* (2006), des effets sur les cellules mésothéliales doivent être envisagés suite à une exposition aux nanotubes de carbone si l'on considère les effets de l'amiante sur ces cellules. Cette hypothèse devra par contre être démontrée scientifiquement.

Dumortier *et al.* (2006) ont établi que des nanotubes de carbone fonctionnalisés étaient pris en charge par les lymphocytes B et T et par les macrophages *in vitro* sans affecter la viabilité cellulaire. Des nanotubes de carbone monoparois ont été fonctionnalisés avec des radicaux contenant des ions ammonium puis rendus fluorescents par addition d'isothiocyanate de fluorescéine sur l'azote. Cette forme hautement soluble dans l'eau n'a pas influencé l'activité fonctionnelle de cellules immunorégulatrices. Ils n'ont pas induit de mort cellulaire ou d'activation de lymphocytes ou de macrophages. Des NTC contenant des chaînes polyéthylène glycol également fonctionnalisées par la suite avec de l'isothiocyanate de fluorescéine sont moins solubles et forment une suspension stable dans l'eau. Ils préservent la fonctionnalité des lymphocytes mais provoquent la sécrétion de cytokines proinflammatoires par les macrophages et modifient subséquemment leur capacité à répondre à un stimulus physiologique. Les concentrations utilisées se situaient dans une plage de 1 à 10 µg/mL avec des temps d'incubation de 4 à 24 heures.

Pulskamp *et al.* (2007) ont démontré que les NTC peuvent pénétrer la membrane cellulaire de macrophages (NR8383) de rats et avoir une influence sur leur physiologie et leur fonction cellulaire. En travaillant avec ces macrophages NR8383 de même qu'avec des cellules pulmonaires humaines (A549), les auteurs n'ont noté aucune toxicité aiguë sur la viabilité de cellules exposées à des MWCNT ou à des SWCNT purifiés ou non. Aucun nanotube n'a induit de médiateurs d'inflammation NO, TNF- et IL-8. Ils ont observé une augmentation dose-dépendante et dépendante du temps d'espèces réactives d'oxygène intracellulaire et une diminution du potentiel de la membrane de la mitochondrie avec les NTC commerciaux pour les deux types de cellules. Les NTC purifiés, qui contiennent une plus faible teneur en métaux, n'ont pas ou peu démontré ces effets. Ceci amène les chercheurs (Pulskamp *et al.*, 2007) à suggérer que ce sont les métaux associés aux NTC commerciaux qui seraient responsables des effets biologiques.

Wick *et al.* (2007) ont exposé des cellules humaines MSTO-211H *in vitro* à des nanotubes de carbone de différents degrés d'agglomération. Les effets cytotoxiques des NTC dispersés à l'aide d'un surfactant étaient inférieurs à ceux de l'amiante mais les effets des NTC agglomérés sous forme de corde (plus volumineux, plus rigides et plus solides) démontraient une plus grande cytotoxicité que l'amiante.

5.2.2. L'exposition cutanée

5.2.2.1. Les effets sur les organes

5.2.2.1.1. Les effets sur la peau et les muqueuses

Huczko et Lange (2001a) ont étudié les effets de l'exposition aux nanotubes de carbone sur la peau et les yeux. L'application d'un filtre saturé d'une solution contenant des nanotubes n'a pas causé d'irritation chez des volontaires. L'instillation oculaire d'une suspension aqueuse de nanotubes chez des lapins n'a pas causé d'irritation.

5.2.2.1.2. Les effets sur le système respiratoire

Aucune donnée

5.2.2.1.3. Les effets sur le foie

Aucune donnée

5.2.2.1.4. Les effets sur les reins

Aucune donnée

5.2.2.1.5. Les effets sur le système gastro-intestinal

Aucune donnée

5.2.2.1.6. Les effets sur le cœur et la circulation sanguine

Aucune donnée

5.2.2.1.7. Les effets sur le sang et le système hématopoïétique

Aucune donnée

5.2.2.1.8. Les effets sur le système nerveux

Aucune donnée

5.2.2.2 Les effets immunologiques et allergiques

Huczko et Lange (2001a) ont étudié les effets de l'exposition aux nanotubes de carbone sur la peau et les yeux. L'application d'un filtre saturé avec des nanotubes n'a pas causé d'allergie chez des volontaires.

5.2.2.3. Les effets sur la reproduction et le système reproducteur

Aucune donnée

5.2.2.4. Les effets sur le développement

Aucune donnée

5.2.2.5. Les effets génotoxiques

Aucune donnée

5.2.2.6. Les effets cancérigènes

Aucune donnée

5.2.2.7. Les effets cellulaires et humoraux

Aucune donnée

5.2.3. L'exposition par ingestion

Aucune donnée

5.2.4. L'exposition par d'autres voies

5.2.4.1. Les effets sur les organes

5.2.4.1.1. Les effets sur la peau et les muqueuses

Shevedova *et al.* (2003), dans une étude *in vitro*, ont rapporté que les SWCNT ont causé une diminution significative de la viabilité cellulaire et des biomarqueurs du stress oxydatif (ex. réserve des antioxydants) avec une relation dose-réponse, ainsi qu'une augmentation significative des peroxydes lipidiques sur les kératinocytes épidermiques humains (0, 0,06, 0,12 et 0,24 mg/mL de SWCNT pendant 18 h). Les auteurs mentionnent que leurs résultats indiquent que l'exposition aux SWCNT non raffinés peut conduire à une augmentation de la toxicité cutanée chez les travailleurs exposés.

Yokoyama *et al.* (2005) ont implanté des amas de nanotubes de carbone (~ 30 à 100 nm de diamètre et ~ 100 nm à 1 µm de longueur) dans le tissu sous-cutané de rats (Wistar). Une semaine après l'implantation, les auteurs ont observé du tissu de granulation autour des amas de NTC et une réponse inflammatoire semblable à celle observée lors de la formation de granulomes. Après quatre semaines, les amas de NTC étaient entourés de tissu fibreux. Aucune réponse inflammatoire sévère (nécrose, dégénérescence des tissus ou infiltration de neutrophiles) n'a été notée autour des NTC au cours de l'étude. Les NTC ont été observés dans les espaces intercellulaires et intracellulaires une semaine après l'implantation. Certains NTC ont également été observés dans les lysosomes des macrophages. Les résultats suggèrent que les NTC ne présentent pas de toxicité aiguë dans le tissu sous-cutané (Yokoyama *et al.*, 2005). Les doses administrées n'ont pas été précisées.

5.2.4.1.2. Les effets sur le système respiratoire

Shvedova *et al.* (2003 ; 2004b), dans une étude *in vitro*, ont rapporté que les SWCNT ont causé une diminution significative et proportionnelle aux doses administrées de la viabilité cellulaire et des biomarqueurs du stress oxydatif (ex. réserve des antioxydants), ainsi qu'une augmentation significative des peroxydes lipidiques sur les cellules épithéliales bronchiques humaines (0, 0,06, 0,12 et 0,24 mg/mL de SWCNT pendant 18 h). À la concentration de 0,24 mg/mL, ils ont détecté du fer dans les cellules et une augmentation de l'apoptose. Ils concluent que l'exposition aux SWCNT non raffinés peut conduire à une augmentation de la toxicité pulmonaire des travailleurs à cause du stress oxydatif.

5.2.4.1.3. Les effets sur le foie

Aucune donnée

5.2.4.1.4. Les effets sur les reins

Aucune donnée

5.2.4.1.5. Les effets sur le système gastro-intestinal

Aucune donnée

5.2.4.1.6. Les effets sur le cœur et la circulation sanguine

Aucune donnée

5.2.4.1.7. Les effets sur le sang et le système hématopoïétique

Aucune donnée

5.2.4.1.8. Les effets sur le système nerveux

Aucune donnée

5.2.4.2. Les effets immunologiques et allergiques

Salvador-Morales *et al.* (2006) ont étudié l'activation du complément³ par des SWCNT et des nanotubes de carbone à double parois (DWCNT ; normalement 1-3,5 nm de diamètre) dans du sérum humain (0,62-2,5 mg de nanotubes dans 500 µL de sérum). Les dimensions exactes des nanotubes n'ont pas été précisées. Les deux types de nanotubes de carbone ont activé le complément de façon similaire au zymosan utilisé comme contrôle positif (relation dose-dépendante). Les auteurs concluent que l'activation du complément par les nanotubes de carbone via les voies classique et alternative pourrait promouvoir l'inflammation et la formation de granulomes. La protéine C1q se lie directement aux nanotubes de carbone et les protéines se liant en plus grande quantité aux nanotubes sont le fibrinogène et les apolipoprotéines (AI, AIV et CIII).

5.2.4.3. Les effets sur la reproduction et le système reproducteur

Aucune donnée

5.2.4.4. Les effets sur le développement

Aucune donnée

5.2.4.5. Les effets génotoxiques

Zheng *et al.* (2003) ont montré que l'ADN à brin simple (origine non précisée) peut s'enrouler *in vitro* autour d'un nanotube de carbone dont le diamètre et les propriétés électriques sont appropriées. Les conséquences d'une telle interaction, notamment dans les processus de réplication et de transcription, restent à étudier.

Shvedova *et al.* (2004a) ont exposé des kératinocytes de l'épiderme humain (HaCaT) et des cellules épithéliales bronchiales (BEAS-2B) à des SWCNT. Ils ont observé des dommages dans certains gènes, dont ceux impliqués dans le stress oxydatif.

5.2.4.6. Les effets cancérigènes

Aucune donnée

5.2.4.7. Les effets cellulaires et humoraux

Shvedova *et al.* (2004a) ont exposé des kératinocytes de l'épiderme humain (HaCaT) et des cellules épithéliales bronchiales (BEAS-2B) à des SWCNT. Ils ont constaté des changements dans l'ultrastructure et la morphologie des cellules, la perte d'intégrité et l'apoptose des cellules ainsi qu'un stress oxydatif (formation de radicaux libres, accumulation de produits de peroxydation et diminution des antioxydants dans les cellules). Les auteurs concluent que l'exposition à des SWCNT peut provoquer de la toxicité cutanée et pulmonaire et

³ Le complément est formé d'un groupe de protéines présentes dans le sang et qui interagissent pour défendre l'organisme contre les cellules reconnues comme étrangères (Salvador-Morales *et al.*, 2006).

que le stress oxydatif est un des mécanismes potentiellement important impliqué dans les dommages cellulaires.

Cui *et al.* (2005) ont montré que les SWCNT pouvaient inhiber la prolifération cellulaire, induire l'apoptose et diminuer l'adhérence des cellules embryonnaires rénales d'embryons humains *in vitro* (25, 50, 100 et 150 µg/mL, pendant 1 à 5 jours).

Jia *et al.* (2005b) ont fait une étude comparée de la cytotoxicité des SWCNT, des MWCNT (10-20 nm de diamètre) et du fullerène C₆₀ sur les macrophages alvéolaires de cochons d'Inde. Aucune cytotoxicité n'a été observée pour les fullerènes (jusqu'à une dose de 226 µg/cm²). Par contre, les SWCNT ont montré une plus forte toxicité que les MWCNT. La dose de particules nécessaire pour induire une diminution de la phagocytose des macrophages était inférieure pour les SWCNT (0,38 µg/cm²) comparativement aux MWCNT et aux fullerènes (3,06 µg/cm²). Les SWCNT et les MWCNT ont été plus toxiques que le quartz qui est considéré comme un risque important à la santé lors d'une exposition chronique par inhalation en milieu de travail (Jia *et al.*, 2005b).

Dans une étude de Cunningham *et al.* (2005) citée par Monteiro-Riviere et Inman (2006), le profil d'expression génétique obtenu suite à l'exposition de kératinocytes de l'épiderme humain à des SWCNT (1,0 mg/mL) était semblable à celui obtenu suite à une exposition au quartz ou à la silice.

Shvedova *et al.* (2005) ont exposé des macrophages de souris (RAW 264.7) à des SWCNT (0,1 mg/mL pendant 6 h). Ils ont observé une production de TGF-β1 (facteur de croissance impliqué dans la fibrogenèse) similaire à celle induite par le zymosan (stimulant des macrophages alvéolaires utilisés comme contrôle positif ; 0,25 mg/mL pendant 2 h). Les SWCNT n'ont pas provoqué de réponse oxydative ou la production d'oxyde nitrique (NO) ni l'apoptose des cellules. La production de TNF-α et de IL-1β a été plus marquée avec le zymosan. Il semble que les macrophages n'ont pas phagocyté activement les SWCNT.

Potapovich *et al.* (2005) ont également exposé des macrophages (RAW 264.7) à des SWCNT contenant différentes proportions de fer. Les auteurs ont observé la phagocytose des SWCNT par les macrophages ainsi qu'une diminution du glutathion et une augmentation du nombre de cellules apoptotiques. Aucune production intracellulaire de superoxyde (O₂⁻) ou de NO n'a été observée suite à l'exposition. Les SWCNT riches en fer ont catalysé la conversion du O₂⁻ extracellulaire en radicaux hydroxyles suite à l'activation des macrophages et ont stimulé la production de IL-6. Les SWCNT dépourvus de fer ont stimulé la production de TGF-β. Les auteurs soulignent que les dommages aux cellules et aux tissus peuvent être augmentés par une synergie entre la réponse inflammatoire et le potentiel oxydant du fer présent dans les SWCNT. En effet, l'inflammation causée par les SWCNT fournit un environnement propice à l'action oxydante du fer (Potapovich *et al.*, 2005).

Muller *et al.* (2005) ont observé de la cytotoxicité (augmentation de l'activité de la LDH) ainsi qu'une surproduction de cytokines proinflammatoires (TNF-α) chez des macrophages péritonéaux de rats exposés *in vitro* à des MWCNT broyés. Le noir de carbone et l'amiante utilisés comme contrôles ont provoqué les mêmes effets.

Li *et al.* (2005) ont évalué l'effet des NTC *in vitro* sur des cellules endothéliales humaines de l'aorte. Ils ont observé une augmentation de l'ARNm de MCP-1, VCAM-1 (gènes impliqués dans la réponse inflammatoire dans le coeur) et IL-8 dans les cellules après une exposition de 2 h. L'oxydation des lipoprotéines de faible densité (LDL) a également été observée (relation dose-dépendante).

Ding *et al.* (2005) ont étudié les mécanismes de toxicité des MWCNT et des nano-oignons (MWCNO) sur des fibroblastes de la peau humaine (HSF42) *in vitro*. Les cellules ont été exposées aux MWCNT (0,6 et 0,06 µg/mL) et aux MWCNO (6 et 0,6 µg/mL) pendant 24 ou 48 h. L'exposition des cellules aux MWCNT et aux MWCNO a provoqué l'arrêt du cycle cellulaire ainsi qu'une augmentation de l'apoptose et de la nécrose. Plusieurs voies de signalisation intracellulaire ont été perturbées suite à l'exposition. Les MWCNT et les MWCNO ont activé des gènes impliqués dans le transport cellulaire, le métabolisme, la régulation du cycle cellulaire et la réponse au stress. Les auteurs ont également observé des différences dans le profil d'expression des gènes en fonction du matériau testé et de la dose. Les MWCNT ont induit des gènes indiquant une réponse immunitaire et inflammatoire marquée dans les fibroblastes de la peau alors que les MWCNO ont eu un effet au niveau des gènes impliqués dans la réponse à des stimuli externes. Il semble que les MWCNT soient plus toxiques que les MWCNO et que les voies de signalisation intracellulaire de l'interféron et de p38/ERK-MAPK soient en cause dans cette plus grande toxicité.

Soto *et al.* (2005) ont étudié la viabilité de macrophages de poumons de souris exposés à différents nanomatériaux. Le chrysotile a été utilisé comme contrôle positif et un indice relatif de cytotoxicité de 1 lui a été attribué. Les auteurs ont attribué les indices relatifs de cytotoxicité suivants aux nanomatériaux testés à une concentration de 5 µg/mL : 1,6 pour l'Ag ; ~ 0,4 pour le TiO₂ ; 0,7-0,9 pour le Fe₂O₃, le Al₂O₃ et le ZrO₂ ; 0,4 pour le Si₃N₄ ; 0,8 pour le noir de carbone et 0,9-1,1 pour les agrégats de nanotubes de carbone (SWCNT et MWCNT). La taille des particules testées variait de 3 à 150 nm (la longueur des nanotubes pouvait atteindre plus de 15 µm) et les agrégats formés avaient des dimensions allant de 25 nm à 20 µm. Les auteurs soulignent que la réponse des cellules aux agrégats de MWCNT a été très similaire à la réponse au chrysotile.

Monteiro-Riviere *et al.* (2005a) ont étudié la toxicité des surfactants utilisés pour empêcher l'agglomération des MWCNT dans les études expérimentales. Des kératinocytes de l'épiderme humain ont été exposés pendant 24 heures à différentes dilutions (0,1 à 10 %) de Pluronic L61, L92 et F127 et de Tween 20 ou 60. La viabilité des cellules exposées au Pluronic F127 variait de 27,1 à 98,5 % alors que la viabilité avec les autres surfactants était inférieure à 10 %. La diminution de viabilité était proportionnelle à la concentration de surfactant. Les auteurs ont ensuite exposé des kératinocytes à 0,4 mg/mL de MWCNT avec ou sans Pluronic F127 (à 1 ou 5%). Les MWCNT ont démontré de la toxicité (augmentation de IL-8) indépendamment de la présence ou de l'absence de surfactant, mais la toxicité diminuait en présence de Pluronic F127. Le surfactant seul a également provoqué une augmentation de IL-8. Les auteurs concluent que le Pluronic F127 n'augmente pas la cytotoxicité des MWCNT malgré une meilleure dispersion.

Murr *et al.* (2005) ont comparé la toxicité de SWCNT (agrégats d'environ 10 µm de diamètre) et de deux types de MWCNT (agrégats de 0,1 à 3 µm de diamètre, longueur de 30 nm à 3 µm et rapport longueur/diamètre d'environ 3 à >100) sur des macrophages alvéolaires de souris *in vitro*. Le chrysotile (agrégats de 0,5 à 15 µm de diamètre, longueur de 0,5 à >15 µm et rapport longueur/diamètre de 50 à >1500) et le noir de carbone (agrégats de 10-50 nm) ont été utilisés pour la comparaison. Les cellules ont été exposées à des concentrations allant de 0,005 à 10 µg/mL pendant 48 heures. Toutes les particules ont provoqué la mort des cellules à partir de 2,5 µg/mL et la réponse cytotoxique en terme de viabilité des macrophages était similaire à celle observée avec le chrysotile. Le noir de carbone a été légèrement moins toxique que les nanotubes et le chrysotile. La viabilité des cellules diminuait en fonction de la concentration. Selon les auteurs, le chrysotile et les MWCNT ne peuvent être différenciés d'un point de vue morphologique.

Bottini *et al.* (2006) ont comparé la toxicité des MWCNT purs (*pristine*) (diamètre 20-40 nm et longueur 1-5 µm) et des MWCNT oxydés sur des lymphocytes T humains en culture. À une dose de 400 µg/mL (~10 millions de nanotubes de carbone par cellule), les MWCNT oxydés ont provoqué la perte de 80 % des cellules en 5 jours. Les deux formes de MWCNT ont induit l'apoptose des lymphocytes T (relation temps et dose-dépendante), mais les MWCNT oxydés se sont avérés plus toxiques que les MWCNT (hydrophobes). À la même concentration (400 µg/mL), le noir de carbone (dimensions non précisées) a eu un effet minime sur la viabilité cellulaire.

Kagan *et al.* (2006) ont exposé des macrophages (RAW 264.7) à des SWCNT contenant différentes proportions de fer (diamètre moyen 1-4 nm). Aucune production intracellulaire de superoxyde (O_2^-) ou de NO n'a été observée suite à l'exposition aux SWCNT non purifiés (26 % de fer en poids ; 950 m²/g) ou purifiés (0.23 % de fer en poids ; 1040 m²/g) à des concentrations de 0,12 et 0,5 mg/mL. Les SWCNT non purifiés ont catalysé la conversion du O_2^- extracellulaire en radicaux hydroxyles suite à l'activation des macrophages (par le zymosan). Les auteurs ont également observé une diminution du glutathion et une accumulation d'hydroperoxydes (LOOH) dans les macrophages activés (par le zymosan ou l'acétate et myristate de phorbol) et exposés aux SWCNT non purifiés.

Donaldson *et al.* (2006) rapportent que la toxicité des SWCNT *in vitro* diminue lorsque leur surface est modifiée. Dans une étude de Kam *et al.* (2004) citée par Monteiro-Riviere et Inman (2006), des SWCNT conjugués à de la streptavidine ont montré une faible toxicité sur des cellules HL60, mais le complexe SWCNT-biotine-streptavidine a provoqué la mort des cellules.

Sayes *et al.* (2006a) ont étudié la toxicité de SWCNT présentant différentes densités de fonctionnalisation (ratio entre le nombre d'atomes de carbone et de molécules liées) sur des fibroblastes de la peau humaine *in vitro*. Les cellules ont été exposées à des SWCNT-phényl-SO₃H, SWCNT-phényl-(COOH)₂, SWCNT dans 1 % de copolymère d'oxyde d'éthylène et d'oxyde de propylène (Pluronic F108, agent dispersant) et SWCNT-phényl-SO₃Na pendant 48 h à des concentrations allant de 3 µg/mL à 30 mg/mL. Des cellules exposées à une solution de 1 % de Pluronic F108 ont servi de contrôles. Les auteurs ont observé que les SWCNT fonctionnalisés étaient moins toxiques que les SWCNT dans 1 %

de Pluronic F108. Une diminution de 10 % de la viabilité a été mise en évidence chez les cellules exposées à la solution de 1 % de Pluronic F108 (contrôles). La toxicité des SWCNT diminue en fonction de leur densité de fonctionnalisation.

Magrez *et al.* (2006) ont exposé trois lignées cellulaires de tumeur du poumon humain (H596, H446, Calu-1) à des MWCNT (diamètre 20 nm ; rapport longueur/diamètre 80-90), des nanotubes de carbone (diamètre 150 nm ; rapport longueur/diamètre 30-40) et des NP de noir de carbone (distribution de tailles nanométriques ; rapport longueur/diamètre ~1). Ils ont rapporté une diminution de la viabilité en fonction de la concentration chez les trois types de cellules exposées à des MWCNT (0,002 à 0,2 µg/mL pendant 4 jours). À toutes les concentrations et pour tous les nanomatériaux testés, le noir de carbone a démontré la plus forte toxicité alors que les MWCNT ont été les moins toxiques. Le nombre de cellules viables diminuait en fonction de la dose d'exposition pour tous les nanomatériaux. Les auteurs soulignent que les filaments ont été moins toxiques que les particules dans leur étude, alors que la situation inverse a été observée dans d'autres études (entre autres Muller *et al.*, 2005 et Bottini *et al.*, 2006). Des changements morphologiques indiquant des dommages irréversibles et la mort des cellules ont également été constatés. Par ailleurs, une augmentation de la toxicité a été observée suite à l'ajout de groupements carbonyle (C=O), carboxyle (COOH) et/ou hydroxyle (OH) à la surface des MWCNT. Les auteurs concluent que les nanomatériaux testés sont toxiques et que la toxicité dépend de la taille.

Une analyse protéomique effectuée sur des kératinocytes de l'épiderme humain exposé à des MWCNT a montré une modification dans l'expression de plusieurs protéines suggérant, entre autres, une inhibition du cycle cellulaire (Monteiro-Riviere et Inman, 2006).

Fenoglio *et al.* (2006) ont étudié la production de radicaux libres par des MWCNT purifiés (9,7 ± 2,1 nm de diamètre ; 5,9 ± 0,05 µm de longueur ; 378 m²/g de surface) dans une suspension aqueuse. Les résultats suggèrent que les MWCNT ne génèrent pas de radicaux libres en présence de peroxyde d'hydrogène (H₂O₂) ou de formiate. Les MWCNT ont démontré une capacité à neutraliser les radicaux libres en présence d'une source externe de radicaux hydroxyles (HO) ou superoxydes (O₂⁻). Les auteurs concluent qu'il est possible que la réaction inflammatoire causée par l'exposition aux MWCNT purifiés *in vivo* soit attribuable à des propriétés autres que la formation de radicaux libres.

Fiorito *et al.* (2006a, b) ont comparé la toxicité de différents types de SWCNT et de fullerènes C₆₀ sur des macrophages humains et de souris (J 774). Des cellules exposées à du graphite synthétique hautement purifié ont servi de contrôles. La production de NO par les macrophages de souris a été similaire avec le LPS (lipopolysaccharide utilisé comme contrôle positif), les SWCNT purs (2 % d'impuretés en poids) et les fullerènes C₆₀ après 24, 48 et 72 h d'incubation. La production de NO par les cellules exposées au graphite était significativement plus élevée que pour les cellules exposées uniquement au LPS. Tous les nanomatériaux testés ont été phagocytés par les macrophages humains. Les SWCNT purs et les fullerènes C₆₀ ont induit l'apoptose, la mort des cellules et des modifications métaboliques dans une plus faible proportion que le graphite et les SWCNT non purifiés ou ouverts. Le potentiel cytotoxique des SWCNT purs était faible et très similaire à celui des fullerènes C₆₀. Selon les auteurs, les

résultats suggèrent que les fullerènes C₆₀ n'induisent pas de réponse inflammatoire dans les cellules humaines *in vitro* et qu'ils ne sont pas cytotoxiques. Le plus faible potentiel inflammatoire des fullerènes C₆₀ et des SWCNT purs pourrait être dû à la faible quantité de catalyseurs et de graphite présents dans ces nanomatériaux (Fiorito *et al.*, 2006a, b).

Raja *et al.* (2007) ont étudié l'impact de l'exposition de cellules de muscles lisses aortiques de rat à des nanotubes de carbone monoparois (SWCNT) agrégés ou non à des concentrations de 0 à 0,1 mg/mL pour des durées allant jusqu'à 3,5 jours. Les SWCNT filtrés agrégés ou non ont tous deux démontré une inhibition de la croissance cellulaire dose-dépendante par rapport au contrôle après 2,5 jours d'incubation. À concentration égale, le noir de carbone était moins inhibiteur que les SWCNT.

Le tableau 2 résume les effets sur la santé documentés des nanotubes de carbone. Il permet de mettre en évidence les informations disponibles limitées et incomplètes existantes.

Tableau 2. Effets sur la santé documentés des nanotubes de carbone ¹

Effet	SWCNT				MWCNT			
	Voie				Voie			
	Inhalation ²	Cutanée	Orale	Autres	Inhalation ²	Cutanée	Orale	Autres
Toxicocinétique			▲	▲■	▲			■
Irritation		■▲						
Systemique ³								
Aigu	▲			▲	▲			
Intermédiaire								
Chronique								
Neurologique								
Immunologique		■		■				
Développement								
Reproduction								
Génotoxique				■				
Cancer								

¹ Études existantes chez l'humain (■) ou l'animal (▲). Adapté de l'ATSDR.

² Incluant l'instillation intratrachéale.

³ Effet systémique : aigu (≤ 14 jours), intermédiaire (15 à 364 jours) et chronique (≥ 365 jours).

6. LES EFFETS DES NANOPARTICULES INORGANIQUES SUR LA SANTÉ

Les NP inorganiques insolubles peuvent être constituées de métaux purs, de différents produits ou alliages inorganiques. Seule leur dimension nanométrique les distingue des mêmes produits normalement retrouvés à plus grande échelle. Or, c'est précisément à cause de leurs propriétés uniques reliées à leur échelle nanométrique que ces particules sont produites. À cette échelle, elles démontrent, en effet, des propriétés mécaniques, électriques ou autres qui n'existent pas lorsque ces mêmes produits ont une plus grande dimension.

Parmi les NP inorganiques, le TiO₂ a été abondamment étudié. Le NIOSH (2005) a publié une version préliminaire détaillée de son évaluation des risques pour la santé reliés à une exposition professionnelle au TiO₂. Il recommande, en résumé, une limite d'exposition de 0,1 mg/m³ pour les particules ultrafines de TiO₂ de dimensions nanométriques alors que la limite recommandée pour les particules fines de TiO₂ est de 1,5 mg/m³ (pour une exposition jusqu'à 10 h par jour pendant une semaine de travail de 40 h). Cette différence reflète l'influence de la surface spécifique dans la toxicité des particules ultrafines (NIOSH, 2005). Le respect de ces recommandations devraient diminuer le risque de cancer pulmonaire à moins de 1 sur 1000 chez les travailleurs exposés au TiO₂ (NIOSH, 2005).

6.1. La toxicocinétique

6.1.1. L'absorption

Dans une étude de Stearns *et al.* (1994) citée par Hervé-Bazin (2005), des particules d'oxyde de cuivre administrées par inhalation à des hamsters (11 nm, 60 minutes) ont été retrouvées sur et dans le mucus ainsi qu'à la surface de l'épithélium alvéolaire. Les concentrations administrées n'ont pas été précisées. Les particules ont également pénétré les cellules épithéliales, l'interstitium pulmonaire et les macrophages ainsi que les capillaires alvéolaires et les vaisseaux lymphatiques. Oberdörster *et al.* (2005b) soulignent que la translocation vers le sang est probable une fois que les particules ont atteint les ganglions lymphatiques.

Dans une étude de Hatch *et al.* (1994) citée par Hervé-Bazin (2005), l'examen de macrophages alvéolaires de volontaires sains (7 travailleurs d'une usine de production d'énergie par incinération d'huiles, 4 soudeurs de cette même usine et 3 employés d'une université sans exposition connue) a permis de mettre en évidence la présence de particules ultrafines dans les phagolysosomes des macrophages de ces travailleurs. Des métaux comme le cadmium, le vanadium, le titane et le fer ont été retrouvés. Aucun lien entre la présence des particules ultrafines dans les macrophages et la profession du sujet n'a été observé. Cela signifie que l'exposition à des particules ultrafines peut survenir à l'extérieur du milieu de travail (Hervé-Bazin, 2005). Une autre étude réalisée sur des adultes sains et non fumeurs a aussi mis en évidence la présence de particules ultrafines dans les macrophages alvéolaires (Witschger et Fabriès, 2005).

Hussain *et al.* (2001) ont démontré une captation cellulaire de substances microparticulaires par des entérocytes, ainsi que leur transport entre les cellules. Dans certains cas, le passage de microparticules de la lumière intestinale vers la circulation sanguine menait à une distribution corporelle des substances. Ce

phénomène de persorption intestinale a été mis en évidence pour des NP d'or colloïdal non conjuguées de 4, 10, 28 et 58 nm par Hillyer et Albrecht (2001). Dans une étude par ingestion, faite chez la souris, ces chercheurs ont démontré la captation des NP par les entérocytes en maturation des villosités du petit intestin. Cet effet était inversement proportionnel à la dimension des NP.

Limbach *et al.* (2005) ont étudié l'absorption de NP d'oxyde de cérium (25-50 nm et 250-500 nm) dans des fibroblastes de poumon humain *in vitro* (100 ng/g à 100 µg/g de fluide). Ils ont observé l'absorption des NP par les fibroblastes (augmentation linéaire par rapport au temps d'exposition). Les NP ont été retrouvées exclusivement sous la forme d'agglomérats et dans des vésicules à l'intérieur du cytoplasme des cellules. Les NP d'oxyde de petite taille s'agglomèrent rapidement au contact du milieu de culture à moins que leur surface ne soit modifiée (Limbach *et al.*, 2005). Les NP de plus grande taille ont été absorbées en plus grande quantité que les particules plus petites. Les auteurs concluent que la taille des particules est le facteur dominant (de façon indirecte à cause de l'agglomération des petites particules) qui détermine le taux d'absorption alors que la concentration en nombre et la surface totale ont une importance minime.

6.1.2. La distribution

6.1.2.1. L'exposition par voie respiratoire

Suite à une instillation intranasale, De Lorenzo (1970) a rapporté la translocation de NP d'or colloïdal recouvert d'argent de 50 nm le long d'axones vers le bulbe olfactif de singes. La vitesse moyenne de déplacement des particules était de l'ordre de 2,4 mm/h avec certaines particules apparaissant dans le bulbe olfactif de 30 à 60 minutes après l'inoculation nasale. Cette observations a été confirmée par Oberdorster *et al.* (2004). Wang *et al.* (2005) ont démontré chez la souris que des particules inhalées d'oxyde de titane de 20 et de 200 nm peuvent toutes les deux être transloquées vers le cerveau de la souris par le nerf olfactif. La vitesse de translocation était dépendante de la taille.

Une des premières études sur la comparaison de particules fines (250 nm) et ultrafines (20 nm) de TiO₂ a été publiée par Oberdörster *et al.* (1994). Dans cette étude par inhalation chez le rat, les auteurs ont observé une rétention pulmonaire plus importante des particules ultrafines trois mois post-exposition. Les concentrations administrées étaient semblables pour les particules fines et ultrafines (respectivement 22,3 ± 4,2 et 23,5 ± 2,9 mg/m³). Les particules de 20 nm se retrouvaient dans les ganglions lymphatiques en plus grand nombre, phénomène indiquant la pénétration des espaces interstitiels. Le temps de clairance pulmonaire des ultrafines était allongé et la translocation de ces particules dans l'interstitium pulmonaire et aux nodules lymphatiques régionaux était significativement plus élevée pour les particules de 20 nm. La surface spécifique est le paramètre le mieux corrélé avec les effets observés.

Pour étudier la distribution de NP d'iridium-192, Ir¹⁹², par inhalation chez le rat, Kreyling *et al.* (2002) ont ventilé des animaux anesthésiés et les ont exposés à des aérosols de 15 et de 80 nm (à 2,5 µg/cm³). Les fractions thoraciques des particules ont été respectivement de 0,49 et de 0,28. Ils ont observé de l'iridium radioactif dans le foie, la rate, le coeur et le cerveau des animaux, phénomène dix fois plus important pour les NP de 15 nm. Les NP d'iridium sont insolubles et

n'ont pas été absorbées dans l'intestin. Les auteurs concluent à une translocation vers les organes, résultant de la mise en circulation des NP par les vaisseaux sanguins pulmonaires. Toujours en utilisant du Ir¹⁹², Semmler-Behnke *et al.* (2007) ont suivi l'élimination de cette substance des poumons suite à l'inhalation intratrachéale chez le rat sur une période de six mois. Immédiatement après l'inhalation, les auteurs ont retrouvé des NP de Ir¹⁹² dans les fluides du lavage broncho-alvéolaire (LBA). Par la suite, les NP étaient surtout associées aux macrophages alvéolaires. Après trois semaines, la teneur en NP du LBA n'était plus que de 6 % de la charge pulmonaire, ce qui contraste fortement avec le comportement des particules micrométriques associées aux macrophages alvéolaires. Trois semaines après l'inhalation, 80% de l'Ir¹⁹² retenu était transloqué dans l'épithélium et l'interstitium pulmonaires. Les auteurs concluent que les NP sont phagocytées moins efficacement que les particules micrométriques mais sont efficacement déplacées de la surface du poumon vers l'interstitium. De ces sites interstitiels, ils sont éliminés à long terme dans le larynx via les macrophages (Semmler-Behnke *et al.* 2007).

Une étude de Mortelmans et Nemery (2002) citée par Hervé-Bazin (2005) a confirmé le passage dans la circulation sanguine chez l'humain avec des particules de carbone (< 100 nm) marquées aux technétium radioactif. Entre 10 à 20 minutes après l'inhalation et durant une heure environ, la radioactivité dans le sang était maximale. La même étude a mis en évidence le foie comme principal organe d'accumulation de ces particules.

Oberdörster *et al.* (2002) ont examiné la distribution corporelle de NP de 20 – 29 nm de carbone-13 (insoluble) dans une étude faite par inhalation chez le rat. Les animaux ont été placés dans une chambre d'exposition à des concentrations de 0,80 et 170 µg/cm³. Aucune élévation de concentration n'a été observée dans plusieurs organes des animaux (poumons, cœur, cerveau, bulbe olfactif et reins) et ce, jusqu'à 24 h après l'exposition. Les chercheurs ont toutefois observé une accumulation importante de carbone-13 dans le foie des animaux des 2 groupes, 18 et 24 h après l'exposition. Les auteurs expliquent la concentration hépatique par une translocation des NP du système respiratoire à la circulation systémique puis au foie.

Dans une étude par inhalation de plus longue durée chez le rat, Oberdörster *et al.* (2004) ont étudié la distribution cérébrale de carbone-13 (insoluble). Dans des chambres d'exposition, les rats étaient exposés pendant 6 h à des concentrations de 0, 150 et 170 µg/cm³, puis sacrifiés aux jours 1, 3, 5 et 7. L'analyse du cerveau, du cervelet et des bulbes olfactifs des animaux a mis en évidence une captation significative au jour 1 chez les rats exposés, qui a persisté dans les bulbes olfactifs seulement, se prolongeant jusqu'au jour 7. Pour expliquer la captation cérébrale de carbone-13, les auteurs postulent une translocation du poumon vers le sang, puis le passage à travers la barrière hémato-encéphalique. Un transport à partir des zones respiratoires vers les bulbes olfactifs, puis une translocation par migration axonale au cerveau ont également pu contribuer au transport des NP.

Mills *et al.* (2006) ont étudié la translocation de NP de carbone marquées au technétium-99 (4-20 nm) dans le sang de 10 volontaires sains (inhalation d'environ 100 MBq de Technegas au cours de 3 respirations). De la radioactivité a immédiatement été détectée dans le sang et a atteint un maximum après une

heure. Les auteurs ont observé une rétention de $95,6 \pm 1,7$ % du Technegas dans les poumons après 6 h et aucune accumulation de radioactivité n'a été détectée dans le foie ou la rate. Les auteurs concluent que la majorité des NP de carbone sont demeurées dans les poumons jusqu'à 6 h après l'inhalation et que ces résultats ne supportent pas l'hypothèse selon laquelle les NP de carbone marquées au technétium-99 subissent une translocation rapide dans la circulation systémique. Une espèce soluble non liée aux NP de carbone (^{99m}Tc -pertechnetate) serait responsable de l'augmentation de la réactivité dans le sang (Mills *et al.*, 2006).

6.1.2.2. L'exposition cutanée

Le bioxyde de titane (TiO_2) est une substance contenue dans les filtres solaires⁴. Lademann *et al.* (1999) n'ont pas observé d'absorption significative de nanocristaux de TiO_2 enrobés (17 nm), au-delà de la couche cornée de la peau de volontaires humains, à l'exception d'une faible quantité (< 1 %) qui avait pénétré les follicules pileux. Puisque les follicules sont aussi isolés des tissus vivants par une couche cornée, les auteurs concluent à l'absence d'absorption cutanée du TiO_2 dans les tissus cutanés vivants.

Schulz *et al.* (2002) n'ont pas observé d'absorption cutanée du TiO_2 nanocristallin dans les couches inférieures à la couche cornée de la peau chez l'humain, après avoir testé l'application de trois formulations dont les caractéristiques particulières différaient (T805: 20 nm cubique; Eusolex T200: 10-15 nm cubique, s'agglomérant en 100 nm, en forme d'aiguilles; Tioveil AQ-10P: 100 nm, en forme d'aiguilles enrobées de Al_2O_3 et SiO_2 et formes particulières du TiO_2 ; affinités variables pour l'eau et l'huile; enrobage ou non). Ces résultats suggèrent une faible probabilité d'absorption du TiO_2 nanoparticulaire au-delà du derme et de son transport dans la circulation sanguine.

6.1.2.3. L'exposition par ingestion

Hillyer et Albrecht (2001) ont rapporté une distribution sanguine et tissulaire de NP d'or colloïdal ingérées chez la souris. Ils ont noté une présence au cerveau, aux poumons, au cœur, aux reins, aux intestins, à l'estomac, au foie et à la rate des animaux, plus marquée pour les NP de 4 et 10 nm, en comparaison avec les particules de 28 et 58 nm.

6.1.2.4. L'exposition par d'autres voies

Paciotti *et al.* (2004) ont étudié des NP d'or colloïdal injectées par voie intraveineuse à des souris auxquelles ils avaient implanté des cellules tumorales du colon. La distribution des NP s'est faite préférentiellement au site tumoral, sans accumulation significative au foie, à la rate ni aux autres organes des animaux.

Hainfeld *et al.* (2004) ont démontré chez la souris avec tumeurs du sein induites, que des NP d'or en solution, injectées par voie intraveineuse, se retrouvaient dans le rein 5 minutes après l'injection (ratio tumeur / rein de 0,4) puis se localisaient

⁴ Les filtres solaires ont retenu l'attention des chercheurs au cours des dernières années, en particulier à cause du potentiel de certaines de leurs composantes de générer la production de radicaux libres et des changements à l'ADN des cellules – donc potentiellement le cancer. Cela serait principalement lié à leur photoinstabilité.

de façon préférentielle au site tumoral (ratio tumeur / tissu sain = 8) et dans une moindre mesure, au foie (ratio tumeur / foie = 1,8).

Les résultats préliminaires d'une étude de Vyvyan Howard évoquent la possibilité que des particules d'or injectées à des rats femelles gestantes soient transférées au fœtus (Wootliff, 2004).

6.1.2.5. *In vitro*

Aucune donnée

6.1.3. Le métabolisme

Jia *et al.* (2005a) ont comparé la toxicité subchronique de NP de sélénium (Nano-Se ; 20-60 nm) avec du sélénite de sodium (Na_2SeO_3) et des protéines à teneur élevée en sélénium chez des rats Sprague-Dawley des deux sexes (0, 2, 3, 4 et 5 ppm de Se dans la nourriture pendant 13 semaines). Les auteurs ont observé une augmentation de l'activité de l'alanine aminotransférase (ALT) chez les rats exposés au Nano-Se (5 ppm de Se), au sélénite de sodium (4 et 5 ppm de Se) et aux protéines à teneur élevée en Se (4 et 5 ppm de Se). Une augmentation de l'activité de l'aspartate aminotransférase (AST) a été observée chez les rats exposés aux protéines à teneur élevée en Se (5 ppm de Se). Une diminution des protéines totales et de l'albumine a été observée chez les rats exposés au sélénite de sodium (4 et 5 ppm de Se) et aux protéines à teneur élevée en Se (5 ppm de Se).

6.1.4. L'excrétion

Dans leur expérience d'inhalation de particules d'iridium radiomarquées chez le rat, Kreyling *et al.* (2002) ont montré que les NP étaient éliminées dans les selles des animaux sans absorption intestinale significative.

6.2. Les effets selon les voies d'exposition (administration)

6.2.1. L'exposition par voie respiratoire

Les résultats d'une étude cas-témoins effectuée par Robertson et Ingalls (1989) auprès de travailleurs d'usine des 7 producteurs de noir de carbone aux États-Unis indique que l'exposition au noir de carbone en milieu de travail n'augmente pas le risque des travailleurs d'être atteints de troubles circulatoires, malins ou respiratoires. Le niveau d'exposition des travailleurs atteints de divers troubles n'était pas plus élevé que celui des contrôles qui étaient exempts de maladie (0,06-1,72 mg/m^3 selon le poste occupé et sur des périodes allant de 7 à 202 mois). Deux contrôles ont été sélectionnés pour chaque cas en fonction de l'âge ($\pm 2,5$ ans) et un des deux contrôles présentait également une durée d'emploi dans l'industrie du noir de carbone comparable au cas ($\pm 2,5$ ans).

6.2.1.1 Les effets sur les organes

6.2.1.1.1. Les effets sur la peau et les muqueuses

Aucune donnée

6.2.1.1.2. Les effets sur le système respiratoire

Dans leur expérience par inhalation chez le rat, Oberdörster *et al.* (1994) et Ferin *et al.* (1992) ont observé une augmentation significative de signes ou de paramètres de l'inflammation lors de l'administration de particules de TiO₂ de 20 nm en comparaison avec la même masse de particules de 250 nm. Jusqu'à ces études réalisées par la même équipe, le bioxyde de titane était considéré comme une poussière non-toxique et servait de contrôle inerte dans plusieurs études toxicologiques. Des dommages à l'épithélium pulmonaire, l'obstruction des pores de Kohn, le développement de foyers de fibrose interstitielle et l'altération des fonctions des macrophages (médiateurs de l'inflammation) étaient significativement plus élevés. Ces résultats démontrent que des particules inertes peuvent devenir biologiquement actives lorsque la dimension est réduite à une taille nanométrique.

Zhang *et al.* (2005b) rapportent que Donaldson (2001) et son équipe avaient démontré que des formes nanoparticulaires (< 50 nm) de bioxyde de titane, d'oxyde d'aluminium et de noir de carbone augmentaient les paramètres de l'inflammation pulmonaire 10 fois plus que l'administration de particules fines des mêmes produits. Borm *et al.* (2004), dans une revue sur le cancer pulmonaire, soulignent que les particules peu solubles, tels le noir de carbone et le bioxyde de titane, sont reconnues pour causer des fibroses, des lésions néoplasiques et des tumeurs pulmonaires chez le rat. La quantité requise de ces produits pour générer les mêmes effets est beaucoup plus faible avec des NP.

Sayes *et al.* (2006b) ont exposé des fibroblastes cutanés et des cellules épithéliales pulmonaires humaines à des NP sphériques d'anatase de 10 nm (une forme cristalline du TiO₂), des particules sphériques de rutile de 5,2 nm (une autre forme cristalline du TiO₂) et à des particules sphériques mixtes d'anatase/rutile de 3,2 nm avec des surfaces spécifiques de 112 (rutile) à 153 m²/g (anatase). De la cytotoxicité et de l'inflammation ont été observés à partir de concentrations de 100 µg/mL selon un comportement dose-réponse classique et les effets ont augmenté en fonction du temps et de la concentration. Les effets observés n'étaient pas corrélés à la surface des particules, l'anatase (surface spécifique 153 m²/g) étant 100 fois plus toxique que le rutile (surface spécifique 123 m²/g) à concentration égale. Les particules les plus cytotoxiques étaient les plus efficaces à générer des espèces réactives à l'oxygène et la toxicité augmentait rapidement avec une illumination dans l'ultraviolet, facteur favorisant la génération de radicaux libres.

Warheit *et al.* (2006) ont étudié la toxicité aiguë de particules et de tiges de TiO₂ chez des rats. Des tiges d'anatase (200 nm x 35 nm ; surface de 26 m²/g) et des particules d'anatase (~ 10 nm ; surface de 169 m²/g) ont été administrées par instillation intratrachéale à des doses de 1 ou 5 mg/kg. Des particules de rutile (~ 300 nm ; surface de 6 m²/g) ont servi de contrôle négatif alors que le quartz a été utilisé comme contrôle positif. Les auteurs ont observé une inflammation transitoire et des dommages aux cellules 24 h après l'exposition aux tiges d'anatase et aux particules d'anatase. Les effets observés n'étaient pas différents

des effets pulmonaires observés suite à l'exposition aux particules de TiO₂ de 300 nm malgré des différences importantes de surface. L'exposition aux particules de quartz a provoqué une réponse inflammatoire dose-dépendante caractérisée par une accumulation de neutrophiles et de macrophages de même qu'un épaissement du tissu pulmonaire indiquant le développement d'une fibrose pulmonaire. Les auteurs concluent que ces résultats sont en désaccord avec l'hypothèse voulant que la surface spécifique soit un facteur majeur associé à la toxicité des particules de dimensions nanométriques, mais ils soulignent que les causes à la base de cette divergence ne sont pas claires.

Chen *et al.* (2006b) ont exposé des souris adultes males ICR à une dose unique (0,1 ou 0,5 mg) de TiO₂ (19-21 nm) par voie intratrachéale. Le TiO₂ induit de l'emphysème pulmonaire, l'accumulation de macrophages, de l'hyperplasie pneumocyte de type II et l'apoptose de cellules épithéliales. De plus, les auteurs ont noté une expression différenciée de centaines de gènes qui ont, entre autres, perturbé le cycle cellulaire, causé de l'apoptose, modifié le facteur de croissance du placenta et conduit à l'expression de certaines chimiokines pouvant causer de l'emphysème pulmonaire et l'apoptose de cellules épithéliales alvéolaires.

Dans une autre étude, Warheit *et al.* (2007a) concluent que les propriétés de surface sont critiques pour déterminer les effets des particules ultrafines de TiO₂. Par instillation intratrachéale à des doses de 1 à 5 mg/kg avec un échantillon de particules de rutile fin, un autre ultrafin, et un lot contenant 80 % anatase et 20 % rutile avec un contrôle positif de quartz, ils ont exposé des rats (5 rats par groupe, par dose et par temps) et les ont évalués 24 heures, une semaine et trois mois post-instillation. L'exposition au quartz, et à un moindre niveau au mélange anatase/rutile (uniquement pour les essais aux fortes concentrations pour le mélange) ont produit de l'inflammation pulmonaire, de la cytotoxicité et des effets histopathologiques clairement distincts sur les tissus pulmonaires. En revanche, les particules fines et ultrafines de TiO₂ n'ont eu qu'un effet inflammatoire passager et ne représentent qu'un faible risque pulmonaire. Les auteurs concluent que les différences d'effets seraient dues à la structure cristalline, au pH des particules et à la réactivité chimique de surface, les particules d'anatase/rutile produisant plus de radicaux libres que celles de rutile, ce qui représenterait une des sources d'inflammation et de cytotoxicité. Les effets n'étaient pas totalement explicables uniquement par la surface des particules.

Grassian *et al.* (2007) ont exposé des souris en chambre d'exposition de façon aiguë (4 h) et sub-aiguë (4 h/jour pendant 10 jours) à de l'anatase cristallin (TiO₂) agrégé (particules élémentaires de 2 à 5 nm; agrégats moyens de 123 nm) à des concentrations de 0,77 et 7,22 mg/m³. L'exposition aiguë a produit une toxicité pulmonaire ou de l'inflammation minimale alors que l'exposition sub-aiguë a conduit à une plus forte teneur en cellules totales et en macrophages dans le liquide broncho-alvéolaire. La réponse inflammatoire était modérée mais significative. Les souris avaient récupéré, trois semaines après l'exposition.

Par instillation intratrachéale de particules sphériques de silice colloïdale de 14 nm à des souris à des concentrations pouvant atteindre 100 µg, Kaewamatawong *et al.* (2006) ont mesuré des inflammations pulmonaires aiguës modérées à sévères à 30 ou 100 µg accompagnées de dommages aux tissus. Le nombre total de cellules des fluides broncho-alvéolaires a augmenté jusqu'à 15 jours puis est revenu comparable aux contrôles après 30 jours. Les auteurs ont remarqué un épaissement des parois du septum alvéolaire et quelques fibroses

interstitielles après 30 jours et concluent que le stress oxydatif et l'apoptose des cellules peuvent induire les atteintes tissulaires observées.

Warheit *et al.* (2007b) ont exposé des rats (5 rats par groupe, par dose et par temps) par instillation intratrachéale à des particules de quartz de 12, 50, 300 et 500 nm qui possédaient des surfaces spécifiques de 4,2 à 90 m²/g et ont mesuré le potentiel hémolytique et l'activité de surface des particules. Après 24 h, une semaine, un mois et trois mois, ils ont évalué la prolifération cellulaire et ont fait une évaluation histopathologique du tissu pulmonaire. L'exposition aux différentes particules de quartz a produit une réponse inflammatoire soutenue et dose-dépendante, l'accumulation de macrophages alvéolaires avec le développement précoce de fibrose pulmonaire et des effets cytotoxiques. Les effets observés ne sont pas toujours reliés à la surface de la particule mais sont bien corrélés à l'activité de surface hémolytique des différentes particules. Les résultats obtenus suggèrent que l'intensité des effets mesurés corrèle mieux avec l'activité de surface hémolytique de test *in vitro* qu'avec l'aire de surface, la taille, la cristallinité, la teneur en métaux (fer) ou les radicaux de surface.

Zhang *et al.* (2000) ont étudié, chez le rat, l'effet de l'instillation intratrachéale de la forme nanoparticulaire de cobalt (20 nm) en comparaison avec l'administration de particules de cobalt de 5 µm à 1, 3, 7, 15 et 30 jours après l'exposition. Les auteurs ont observé des signes d'inflammation pulmonaire beaucoup plus importants avec la fraction nanométrique. L'analyse du liquide du lavage broncho-alvéolaire a révélé une augmentation de la perméabilité et de l'inflammation pulmonaire (augmentation des neutrophiles et des protéines, augmentation de l'activité de la LDH). Des cytokines indiquant une réaction inflammatoire modulée par des macrophages ou des monocytes étaient aussi présentes avec les deux formes de cobalt, mais en plus grande quantité et de façon plus soutenue après administration de la fraction nanométrique.

Dans une étude de Stearns *et al.* (1994) citée par Hervé-Bazin (2005), l'exposition de hamsters à des particules ultrafines de CuO, Cu₂O et Cu(OH)₂ (11 nm, 60 minutes) a provoqué une augmentation (facteur de 4) de la résistance pulmonaire durant 24 h. Des signes d'inflammation, notamment la présence de neutrophiles et d'éosinophiles, ont aussi été observés.

Zhang *et al.* (2003) ont étudié, chez le rat, l'effet de l'instillation intratrachéale de la forme ultrafine de nickel (20 nm) à des doses de 0 à 5 mg en comparaison avec l'administration de particules de nickel de 5 µm à 1, 3, 7, 15 et 30 jours après l'exposition. Les auteurs rapportent des indications d'inflammation et de dommages pulmonaires pour les deux tailles de nickel et la même intensité des effets pour 1 et 5 mg de nickel ultrafin. Les effets étaient beaucoup plus marqués pour le nickel ultrafin, notamment au niveau de la libération de cytokines proinflammatoires pour les 30 jours post-exposition. Ils rapportent également que le nombre de neutrophiles et l'activité LDH dans les fluides de lavage broncho-alvéolaires étaient beaucoup plus marqués pour le nickel ultrafin que pour celui de taille micrométrique.

Dans une étude de Roth *et al.* (1994) citée par Hervé-Bazin (2005), l'exposition de 3 hommes sains (volontaires) à des particules ultrafines d'iridium marquées à l'indium (diamètre moyen en nombre 18 nm) pendant 2 ou 3 cycles respiratoires a provoqué un ralentissement de la clairance pulmonaire jusqu'à 8 jours après l'exposition. Les concentrations n'ont pas été précisées. Les particules plus grosses (> 2 µm) ont une persistance inférieure dans les poumons (Hervé-Bazin, 2005). La présence de particules ultrafines dans les poumons a aussi été associée à une diminution du volume expiratoire forcé (Witschger et Fabriès, 2005).

La capacité bactéricide des poumons a été réduite chez des cochons d'Inde et des souris exposés à des concentrations respectives de 15 et 1,5 mg/m³ de noir de carbone (Smith et Musch, 1982). Les temps d'exposition n'ont pas été précisés.

Des études effectuées auprès de travailleurs ont montré que l'inhalation de noir de carbone peut favoriser le développement d'une bronchite chronique et une légère diminution de la fonction pulmonaire (IARC, 1996, 2006a). Toutefois, l'IARC (1996, 2006a) souligne que ces effets peuvent être attribués à l'irritation non spécifique causée par l'exposition à des poussières. Une réaction au niveau du tissu fibreux a également été observée autour des dépôts de noir de carbone dans le parenchyme pulmonaire (IARC, 1996, 2006a).

L'exposition de rats au noir de carbone à des doses supérieures à 0,5-1 mg/g de poumon provoque un ralentissement de la clairance qui se traduit par une accumulation de particules dans les poumons (IARC, 1996, 2006a). Une réponse inflammatoire est alors observée et se développe en inflammation chronique active. Une augmentation de la déposition de collagène (provenant de la prolifération de fibroblastes) et de la prolifération de cellules épithéliales de même que de la métaplasie ont été observées chez des rats soumis à une dose élevée de noir de carbone (IARC, 1996, 2006a). Aucune précision sur le noir de carbone utilisé n'a été fournie.

Dans une étude subchronique de Driscoll *et al.* (1996), des rats ont été exposés à des concentrations de 1,1, 7,1 et 52,8 mg/m³ de noir de carbone durant 6 heures par jour à raison de 5 jours par semaine pendant 13 semaines. Après 13 semaines d'exposition, les concentrations de 1,1, 7,1 et 52,8 mg/m³ correspondaient respectivement à des dépositions de 354, 1826 et 7861 µg de noir de carbone dans les poumons de rats. L'exposition des rats à 7,1 et 52,8 mg/m³ a provoqué un ralentissement de la clairance, des dommages aux tissus pulmonaires et de l'inflammation, une augmentation de l'expression des chimiokines (MIP-2 et MCP-1), une hyperplasie épithéliale ainsi qu'une fibrose. Les effets étaient plus prononcés à la plus forte concentration et aucun effet n'a été observé à 1,1 mg/m³.

Li *et al.* (1999) ont exposé des rats à des particules fines (260 nm) et ultrafines (14 nm) de noir de carbone par instillation intratrachéale (dose unique de 125 µg). Les auteurs ont observé une alvéolite (augmentation des neutrophiles) 6 heures après l'exposition aux particules ultrafines. Les particules fines ont eu un effet similaire au tampon phosphate salin (PBS) utilisé pour les contrôles. Une augmentation de la LDH et des protéines dans le liquide de lavage broncho-alvéolaire de même qu'une diminution du glutathion dans les tissus pulmonaires ont également été observées avec les particules ultrafines. Les particules fines ont eu un effet moins marqué sur l'augmentation des protéines et la diminution du glutathion. L'augmentation des neutrophiles était encore observable 7 jours après

l'exposition. La production de TNF par les leucocytes a augmenté graduellement après l'instillation et la production de NO est demeurée élevée jusqu'à 7 jours.

Brown *et al.* (2000) ont étudié le rôle des métaux de transition dans les effets observés suite à une exposition au noir de carbone. Des rats Sprague Dawley femelles ont été exposés à des particules fines (320 nm) et ultrafines (14 nm) de noir de carbone par instillation intratrachéale (dose unique de 500 µg). Les auteurs ont observé une augmentation (8 fois) du nombre de neutrophiles dans le liquide de lavage broncho-alvéolaire avec les particules ultrafines de noir de carbone 24 heures après l'exposition. L'inflammation causée par les particules fines était la même que chez les contrôles. Le traitement des particules ultrafines avec un chélateur (desferal) n'a eu aucune influence sur le nombre de neutrophiles. Le produit de la lixiviation de 1 mg de particules n'a provoqué aucune inflammation significative dans les poumons de rats. Les auteurs concluent que l'inflammation causée par les particules ultrafines de noir de carbone n'est pas attribuable à la présence de métaux de transition ou d'autres éléments solubles libérés par les particules.

Inoue *et al.* (2005) ont exposé des souris ICR à des NP de noir de carbone (14 et 56 nm; 50 µg/sem.), de l'ovalbumine (antigène; 1 µg/2 sem.) et une combinaison d'ovalbumine et de noir de carbone (selon les mêmes protocoles respectifs) par instillation intratrachéale une fois par semaine pendant 6 semaines. Les NP de 14 et 56 nm ont provoqué une aggravation de l'inflammation allergique dans les voies respiratoires (infiltration d'éosinophiles, de neutrophiles et de mononucléaires et augmentation du nombre de cellules en gobelet dans l'épithélium bronchial). L'exposition aux NP et à l'antigène de façon simultanée a provoqué une augmentation de l'expression de cytokines (IL-5, IL-6, IL-13) et de chimiokines (éotaxine, MCP-1 et RANTES⁵) dans les poumons alors que l'administration de l'antigène seul n'a pas eu cet effet. La production d'un marqueur de stress oxydatif (8-OHdG) a été plus prononcée avec la combinaison des NP et de l'antigène qu'avec les NP ou l'antigène administrés séparément. De façon générale, les effets ont été plus marqués avec les NP de 14 nm qu'avec celles de 56 nm. Enfin, les particules de 14 nm ont eu un effet adjuvant sur les immunoglobulines IgE totales (impliquées dans les réactions allergiques) et sur les immunoglobulines spécifiques IgG₁ (impliquées dans la défense contre l'infection) et IgE. Les auteurs concluent que les NP peuvent aggraver l'inflammation allergique dans les voies respiratoires et que cet effet peut être causé en partie par l'augmentation de IL-5 et de l'éotaxine au niveau local (impliqués dans le recrutement des éosinophiles) et par l'expression de IL-13, RANTES, MCP-1 et IL-6.

Plusieurs études récentes ont discuté la toxicité des particules de noir de carbone de dimensions nanométriques et ne seront pas exposées en détail ici car ils sont normalement considérés comme des particules ultrafines et non des NP (Frampton *et al.*, 2004). On retrouve, entre autres, l'étude de Yamamoto *et al.* (2006) par instillation intra-trachéale chez la souris qui conclut à une inflammation pulmonaire plus importante avec les particules de noir de carbone de faible dimension. Les effets sont corrélés à la surface des particules tout

⁵ RANTES (*Regulation upon activation, normal T expressed and secreted*) est une cytokine qui induit le chimiotactisme des monocytes et des cellules T à mémoire (lexique du site de l'asthme professionnel de la CSST, http://www.asthme.csst.qc.ca/Document/Info_Med/Formation/ApLatence/Latence11.html).

comme dans les études de Stoeger *et al.* (2006) et Koite *et al.* (2006). L'apoptose et la prolifération de cellules épithéliales pulmonaires peuvent également être causées par le noir de carbone (Stoeger *et al.*, 2006 ; Sydlik *et al.*, 2006)

6.2.1.1.3. Les effets sur le foie

Aucune donnée

6.2.1.1.4. Les effets sur les reins

Aucune donnée

6.2.1.1.5. Les effets sur le système gastro-intestinal

Aucune donnée

6.2.1.1.6. Les effets sur le cœur et la circulation sanguine

L'exposition de singes à du noir de carbone ($53,0 \text{ mg/m}^3$; 1000-10000 heures) a provoqué des changements minimes dans l'électrocardiogramme et une faible hypertrophie ventriculaire (Smith et Musch, 1982).

Harder *et al.* (2005) ont observé une légère augmentation du rythme cardiaque (4,8 %) de même qu'une diminution de la variabilité du rythme cardiaque chez le rat suite à la déposition pulmonaire de particules ultrafines de carbone (38 nm, $180 \text{ } \mu\text{g/m}^3$, 24 h). Selon les auteurs, ces changements seraient reliés à un débalancement du système nerveux autonome causé par l'activation d'un récepteur pulmonaire.

6.2.1.1.7. Les effets sur le sang et le système hématopoïétique

Aucune donnée

6.2.1.1.8. Les effets sur le système nerveux

Pisanic *et al.* (2007) ont exposé des cellules de type neuronal PC12 de rats (20 000 cellules/mL) à des NP de Fe_2O_3 (0,15 à 15 mM) et ont observé une internalisation des NP principalement au niveau du cytoplasme, dans les endosomes et une accumulation dans la région périnucléaire. Ils ont également noté une diminution de la viabilité cellulaire dose-dépendante de même qu'une diminution de la capacité des cellules à développer des neurites. Ils en concluent qu'une exposition au Fe_2O_3 conduit les cellules PC12 à une capacité réduite de répondre de façon appropriée au facteur de croissance des nerfs.

6.2.1.2. Les effets immunologiques et allergiques

Aucune donnée

6.2.1.3. Les effets sur la reproduction

Aucune donnée

6.2.1.4. Les effets sur le développement

Aucune donnée

6.2.1.5. Les effets génotoxiques

Une augmentation significative de la fréquence de mutation du gène *hprt* a été observée dans les cellules épithéliales alvéolaires de rats après 13 semaines d'exposition à 7,1 et 52,8 mg/m³ de noir de carbone (Driscoll *et al.*, 1996). Le même effet a été observé 3 et 8 mois après la fin de l'exposition chez les rats exposés à 52,8 mg/m³.

Contrairement à des extraits obtenus à l'aide de solvants organiques, des particules de noir de carbone intactes n'ont montré aucune activité mutagène (Watson et Valberg, 2001). Le noir de carbone ne démontre pas de potentiel mutagène dans la plupart des études (IARC, 1996, 2006a).

6.2.1.6. Les effets cancérigènes

L'exposition de souris ou de singes (56,5-84,7 mg/m³) de même que de cochons d'Inde, de hamsters, de souris ou de primates (53,0-113,1 mg/m³) à du noir de carbone n'a provoqué aucun effet cancérigène (Smith et Musch, 1982). Les temps d'exposition n'ont pas été précisés.

Une étude sur des souris femelles exposées par inhalation au noir de carbone n'a pas montré d'augmentation de l'incidence des tumeurs des voies respiratoires (IARC, 1996, 2006a). Toutefois, des études dans lesquelles des rats ont été exposés par inhalation ou instillation intratrachéale à du noir de carbone ont mis en évidence une augmentation significative de l'incidence de tumeurs pulmonaires malignes chez les femelles (1996, 2006a). Une augmentation de l'incidence des lésions bénignes a aussi été observée.

Selon Borm *et al.* (2005), c'est la surcharge des mécanismes de défense de l'organisme résultant d'une inflammation chronique qui explique l'effet cancérigène du noir de carbone chez le rat. Les résultats obtenus par Driscoll *et al.* (1996) appuient cette hypothèse puisque les effets mutagènes ont été observés uniquement aux concentrations ayant causé de l'inflammation et de l'hyperplasie.

Une étude menée au Royaume-Uni a mis en évidence un excès de mortalité due au cancer pulmonaire (SMR de 1,5) dans une cohorte de travailleurs affectés à la production de noir de carbone (IARC, 1996, 2006a). Dans une étude cas-témoins menée au Canada (Montréal) dans laquelle l'exposition à plusieurs substances a été évaluée dans un échantillon de population, un excès de risque de cancer de l'œsophage, du rein et du poumon a été observé en lien avec l'exposition au noir de carbone (IARC, 1996, 2006a). Aucun excès de risque n'a été observé pour les sites suivants : estomac, colon, rectum, pancréas, prostate, vessie, mélanome et lymphome non hodgkinien.

L'IARC (1996, 2006a) considère que le noir de carbone est peut-être cancérigène pour l'homme (groupe 2B) même si les preuves sont insuffisantes actuellement. Selon Watson et Valberg (2001), une augmentation du risque de cancer des poumons n'a pas pu être démontrée chez des travailleurs exposés au noir de carbone durant sa production.

Des études épidémiologiques n'ont pas permis de démontrer une augmentation du risque de morbidité ou de mortalité liées au cancer pulmonaire chez les travailleurs affectés à la production de TiO₂ (NIOSH, 2005). Aucune étude n'a été faite concernant des travailleurs manipulant ou utilisant le TiO₂. Le NIOSH

considère que les preuves sont actuellement insuffisantes pour désigner le TiO₂ comme un agent cancérigène potentiel. De son côté, l'IARC (2006b) considère que les preuves de la cancérigénicité du TiO₂ chez l'humain sont insuffisantes, mais qu'elles sont suffisantes chez l'animal. Le TiO₂ est donc considéré comme peut-être cancérigène pour l'homme (groupe 2B) par l'IARC (2006b).

6.2.1.7. Les effets cellulaires et humoraux

Dans une expérience faite par instillation intratrachéale chez le rat, Hohn *et al.* (2002) ont mis en évidence une augmentation des neutrophiles pulmonaires, paramètres précoces de l'inflammation, pour des NP de TiO₂ de 20-30 nm. Cet effet n'était pas aussi significatif avec l'administration de particules de 180 nm. L'enrobage par méthylation, pour rendre les particules hydrophobes, donc encore moins solubles, a diminué légèrement la production de neutrophiles pour les 2 dimensions particulières de TiO₂ lorsque les doses étaient de 1 mg, mais a eu peu d'impact aux doses de 6 mg. Les auteurs concluent que la surface des particules est le facteur déterminant dans l'inflammation pulmonaire, alors que l'enrobage par méthylation a eu un rôle marginal sur les paramètres de l'inflammation.

6.2.2. L'exposition cutanée

6.2.2.1. Les effets sur les organes

Acticoat™ est un produit qui consiste en un treillis de nylon / polyester, emprisonnant du polyéthylène et comportant une couche de nanocristaux d'argent. Ce produit est utilisé depuis plusieurs années pour accélérer la guérison des plaies et réduire la colonisation bactérienne. En présence d'humidité, le produit libère des ions et des radicaux d'argent qui seraient responsables de l'action antibactérienne. Dans une étude *in vitro* sur des kératinocytes humains en culture, Lam *et al.* (2004b) ont observé une diminution importante de la viabilité cellulaire (0 à 9 % de viabilité cellulaire après incubation de 30 minutes) et concluent à la cytotoxicité des nanocristaux d'argent (0,005 – 0,01 % d'argent) libérés par Acticoat™. Poon et Burd (2004), dans une étude *in vitro* sur des fibroblastes et kératinocytes humains, observaient une LD₁₀₀ à des concentrations faibles, comparables aux concentrations thérapeutiques (7 – 55 x 10⁻⁴ %).

Cross *et al.* (2007) concluent que moins de 0,03% des NP d'oxyde de zinc appliqués utilisées dans des formulations de crème solaire ont pénétré l'épiderme humain après 24 heures d'exposition.

6.2.2.2. Les effets immunologiques et allergiques

Aucune donnée

6.2.2.3. Les effets sur la reproduction et le système reproducteur

Aucune donnée

6.2.2.4. Les effets sur le développement

Aucune donnée

6.2.2.5. Les effets génotoxiques

Bergeron et Archambault (2005) rapportent les résultats de deux études dans lesquelles il a été démontré que le TiO₂ et le ZnO contenus dans les filtres solaires endommageaient l'ADN par la production de radicaux libres dans des cellules de la peau.

6.2.2.6. Les effets cancérigènes

Aucun effet du noir de carbone sur le cancer de la peau n'a été observé dans une étude cas-témoins menée auprès de travailleurs de l'industrie du caoutchouc (IARC, 1996, 2006a).

Aucun effet cancérigène n'a été observé suite à l'application cutanée de noir de carbone chez la souris (IARC, 1996, 2006a).

6.2.2.7. Les effets cellulaires et humoraux

Aucune donnée

6.2.3. L'exposition par ingestion

Jia *et al.* (2005a) ont observé une toxicité plus prononcée avec le sélénite de sodium et les protéines à teneur élevée en Se qu'avec le Nano-Se. Les auteurs ont déterminé une dose sans effet nocif observé (NOAEL) de 3 ppm pour le Nano-Se, ce qui correspond à des doses de 0,22 et 0,33 mg/kg de poids corporel par jour pour les mâles et les femelles respectivement. Pour le sélénite de sodium et les protéines à teneur élevée en Se, les auteurs ont déterminé une NOAEL de 2 ppm, ce qui correspond à des doses de 0,14 et 0,20 mg/kg de poids corporel par jour pour les mâles et les femelles respectivement. Les auteurs concluent que le Nano-Se est moins toxique que le sélénite de sodium et les protéines à teneur élevée en Se dans leur étude. Une étude citée par Jia *et al.* (2005a) a d'ailleurs démontré que le Nano-Se (DL₅₀ : 113 mg/kg de poids corporel) a une toxicité aiguë 7 fois inférieure à celle du sélénite de sodium (DL₅₀ : 15 mg/kg de poids corporel) chez la souris et que leur biodisponibilité est similaire chez le rat. Jia *et al.* (2005a) ont également noté une diminution du poids corporel chez les rats exposés au Nano-Se (20-60 nm), au sélénite de sodium et aux protéines à teneur élevée en Se à des concentrations de 4 et 5 ppm de Se.

Zhang *et al.* (2005a) ont observé une incidence plus faible du retard de croissance chez des souris, après ingestion de la forme nanoparticulaire de sélénium (Nano-Se), en comparaison avec les animaux ayant reçu du sélénite de sodium non nanoparticulaire.

Chen *et al.* (2006a) ont étudié les effets aigus de l'administration de NP de cuivre par gavage chez des souris. Ils ont comparé les effets de NP (23,5 nm ; 108 à 1080 mg/kg) et de microparticules (17 µm ; 500 à 5000 mg/kg) de cuivre métallique et d'ions de cuivre (CuCl₂·2H₂O ; 24 à 237 mg/kg) dont la pureté était de plus de 99,9 %. La surface spécifique des NP et des microparticules était de 2,95 × 10⁵ et 3,99 × 10² cm²/g respectivement. Le nombre de particules présentes dans un 1 µg de matière était de 1,7 × 10¹⁰ pour les NP et 44 pour les microparticules. Quatre-vingt-dix souris des deux sexes ont été examinées pour

des changements morphologiques et pathologiques et 90 autres ont été utilisées pour des tests biochimiques sanguins. Les auteurs rapportent des DL₅₀ de 110, 413 et >5000 mg/kg pour les ions, les NP et les microparticules respectivement. Les NP et les ions de cuivre sont donc classés comme modérément toxiques alors que les microparticules sont classées comme pratiquement non toxiques (classes 3 et 5 respectivement sur l'échelle de Hodge et Sterner) (Chen *et al.*, 2006a). Les effets toxiques des NP de cuivre ont été plus prononcés chez les mâles que chez les femelles exposées à une même masse de particules.

Wang *et al.* (2006) ont étudié la toxicité aiguë de NP de poudre de zinc par administration gastro-intestinale chez des souris CD-ICR des deux sexes. Les auteurs ont administré une dose de 5 g/kg de poids corporel de NP (58 ± 16 nm) et de microparticules (1,08 ± 0,25 µm) dont la pureté était de plus de 99,99 %. Un groupe de 20 souris auquel on a administré du sodium carboxyméthyl cellulose a servi de contrôle. Les souris auxquelles on a administré des NP de zinc ont montré des symptômes sévères de léthargie et d'anorexie, des vomissements et de la diarrhée dans les premiers jours du traitement. La mort de deux souris (attribuable à une obstruction intestinale causée par l'agrégation des NP de zinc) s'est produite au cours de la première semaine (jours 2 et 6). Une légère léthargie, mais aucun décès n'ont été observés chez les souris ayant reçu les microparticules de zinc. Au cours des trois premiers jours, les auteurs ont observé une réduction de 22 % de la prise de poids chez les souris ayant été exposées aux NP comparativement aux contrôles. Aucune différence de poids entre les contrôles et les souris exposées aux microparticules n'a été observée au cours de la même période. Les souris exposées aux NP ont toutefois regagné leur poids 6 jours après le traitement.

6.2.3.1. Les effets sur les organes

Jia *et al.* (2005a) ont observé une augmentation du poids relatif des organes (par exemple foie, rate, cerveau) chez les rats exposés au Nano-Se (20-60 nm ; 5 ppm), au sélénite de sodium (4 et 5 ppm) et aux protéines à teneur élevée en Se (3, 4 et 5 ppm).

Chen *et al.* (2006a) ont mis en évidence une atrophie sévère (à des doses allant de 232 à 1080 mg/kg) et un changement de couleur de la rate chez les souris exposées à des NP de cuivre métallique (23,5 nm). Ils ont également observé une atrophie des unités spléniques, une réduction des lymphocytes et de la fibrose dans l'interstitium de la rate. Les auteurs concluent que la rate est un des organes cibles pour les NP de cuivre métallique. La rate des souris exposées aux microparticules (17 µm ; 1077 mg/kg) était légèrement différente de celle des souris utilisées comme contrôle et exposées à une solution contenant 1 % d'hydroxypropylmethylcellulose K4M (HPMC). Les auteurs ont également observé une coloration noire de la vésicule biliaire chez certaines souris exposées aux NP. Chez ces dernières, plusieurs organes dont les reins, la rate et le foie ont subi des dommages importants (à toutes les doses) et la gravité des effets dépendait de la dose administrée. Les reins et le foie sont également des organes cibles pour les NP de cuivre métallique.

Chen *et al.* (2006a) ont également mesuré certains paramètres biochimiques qui reflètent les fonctions hépatiques et rénales dans le sang des souris exposées aux NP de cuivre métallique (23,5 nm ; 108-736 mg/kg). Tous les paramètres

mesurés (azote uréique du sang, créatinine, acide biliaire total et phosphatase alcaline) étaient significativement plus élevés que chez les contrôles. Aucune mesure n'a été prise à la dose la plus élevée (1080 mg/kg) étant donné que tous les animaux sont morts en-deça de 72 h.

6.2.3.1.1. Les effets sur la peau et les muqueuses

Aucune donnée

6.2.3.1.2. Les effets sur le système respiratoire

Aucune donnée

6.2.3.1.3. Les effets sur le foie

Jia *et al.* (2005a) ont observé une inhibition de la croissance et une dégénérescence des cellules hépatiques chez les souris exposées au sélénite de sodium et aux protéines à teneur élevée en Se à une concentration de 3 ppm de Se. Le Nano-Se (20-60 nm) n'a pas eu d'effet à cette dose et a eu un effet significativement plus faible que le sélénite de sodium et les protéines à teneur élevée en Se à des doses de 4 et 5 ppm de Se.

Zhang *et al.* (2005a) ont observé moins d'altérations de la fonction hépatique chez des souris ayant ingéré des NP de sélénium (Nano-Se ; 20-60 nm ; 2 et 4 mg/kg pendant 15 jours), en comparaison avec celles à qui on avait administré du sélénite de sodium non nanoparticulaire.

Chen *et al.* (2006a) ont observé une stéatose autour des veines centrales des tissus hépatiques chez des souris exposées à des NP de cuivre métallique (23,5 nm ; 341 mg/kg).

Le foie des souris exposées aux NP (58 nm) ou aux microparticules (1,08 µm) de zinc dans l'étude de Wang *et al.* (2006) présentait de l'œdème, une dégénérescence hydropique et une légère nécrose des hépatocytes autour de la veine centrale. Une augmentation de certains paramètres biochimiques (alanine aminotransférase, aspartate aminotransférase, phosphatase alcaline et LDH) mesurés dans le sang indiquait également des dommages au foie induits par les microparticules et les NP. De façon générale, les microparticules de zinc ont induit des dommages au foie plus sévères que les NP.

6.2.3.1.4. Les effets sur les reins

Jia *et al.* (2005a) ont observé une nécrose des cellules épithéliales de la zone médullaire des reins chez 4 des 24 rats exposés au sélénite de sodium et aux protéines à teneur élevée en Se à une concentration de 5 ppm de Se. Aucun changement pathologique n'a été observé chez les rats exposés au Nano-Se (20-60 nm).

Chen *et al.* (2006a) ont observé un changement important de couleur des reins chez les souris exposées aux NP de cuivre métallique (23,5 nm ; 1080 mg/kg). Des dommages aux cellules du tubule proximal et des signes de glomérulonéphrite (par exemple enflure des glomérules) ont également été observés. À une dose de 341 mg/kg, les auteurs ont observé une dégénérescence des cellules épithéliales du tubule contourné proximal et une dose de 1080 mg/kg a provoqué une nécrobiose massive et irréversible de ces mêmes cellules. Les noyaux des cellules épithéliales du tubule rénal sont devenus de moins en moins apparents (à partir de 341 mg/kg) et étaient presque disparus à 1080 mg/kg. Enfin, du liquide protéinique (indiquant un trouble du métabolisme des protéines)

contenant une déposition pourpre (signe d'une précipitation des sels de cuivre) a été retrouvé dans les tubules rénaux des souris exposées à des doses allant de 341 à 1080 mg/kg. Les reins des souris exposées aux microparticules (17 µm ; 1077 mg/kg) étaient semblables à ceux des contrôles.

Wang *et al.* (2006) ont observé une légère enflure des glomérules rénaux des souris exposées aux NP ou aux microparticules de zinc. Une dilatation des tubules rénaux et la présence de moules protéiques ont été observées uniquement chez les souris exposées aux NP. Une augmentation de certains paramètres biochimiques du sang (azote uréique et créatinine) chez les souris exposées aux microparticules suggérait un dysfonctionnement rénal consécutif à l'exposition. Les dommages aux reins induits par les NP étaient plus sévères que ceux induits par les microparticules malgré l'absence de changements dans les paramètres sanguins suite à l'exposition aux NP. L'élévation de l'azote uréique du sang chez les souris exposées aux microparticules pourrait être causée en partie par un dysfonctionnement hépatique (Wang *et al.*, 2006).

6.2.3.1.5. Les effets sur le système gastro-intestinal

Une légère inflammation de l'estomac et de l'intestin a été observée chez les souris exposées aux NP et aux microparticules de zinc dans l'étude de Wang *et al.* (2005). Aucun changement pathologique significatif n'a été observé dans les autres organes.

Toutes les souris ayant reçu des NP de cuivre métallique dans l'étude de Chen *et al.* (2006a) ont présenté des troubles gastro-intestinaux (perte d'appétit, diarrhée, vomissement) contrairement à celles qui ont reçu des microparticules (aux mêmes concentrations massiques). Certaines souris ayant reçu des NP ou des ions ont également présenté divers symptômes tels que des tremblements ou de l'hypopnée.

6.2.3.1.6. Les effets sur le cœur et la circulation sanguine

Une dégénérescence grasseuse a été observée dans les cellules cardiovasculaires des tissus cardiaques chez les souris exposées aux NP de zinc dans l'étude de Wang *et al.* (2006). Une telle dégénérescence peut être causée par l'anémie. Aucune altération histopathologique des tissus cardiaques n'a été observée suite à l'exposition aux microparticules. Une augmentation de certains paramètres biochimiques du sang (créatinine kinase, aspartate aminotransférase, LDH et hydroxybutyrate déshydrogénase) chez les souris exposées aux NP ou aux microparticules indique également une atteinte cardiaque.

6.2.3.1.7. Les effets sur le sang et le système hématopoïétique

Jia *et al.* (2005a) ont observé une diminution de certains paramètres hématologiques (hémoglobine, érythrocytes et plaquettes) chez les rats exposés au Nano-Se (5 ppm de Se), au sélénite de sodium (4 et 5 ppm de Se) et aux protéines à teneur élevée en Se (4 et 5 ppm de Se).

Wang *et al.* (2006) ont observé une augmentation des plaquettes sanguines et de l'indice de distribution des globules rouges ainsi qu'une diminution de l'hémoglobine et de l'hématocrite chez les souris exposées aux NP (58 nm) et aux microparticules (1,08 µm) de zinc comparativement aux contrôles. La

diminution de l'hémoglobine et de l'hématocrite a été plus marquée avec les NP qu'avec les microparticules. Cela indique que les NP ont provoqué une anémie plus sévère que les microparticules. Aucune différence significative n'a été observée sur certains des paramètres de la coagulation (temps de prothrombine, fibrinogène et temps partiel de thromboplastine activée) suite à l'exposition aux NP ou aux microparticules.

6.2.3.1.8. Les effets sur le système nerveux

Aucune donnée

6.2.3.2. Les effets immunologiques et allergiques

Aucune donnée

6.2.3.3. Les effets sur la reproduction

Aucune donnée

6.2.3.4. Les effets sur le développement

Aucune donnée

6.2.3.5. Les effets génotoxiques

Aucune donnée

6.2.3.6. Les effets cancérogènes

Aucune étude satisfaisante sur le potentiel cancérogène du noir de carbone administré par ingestion n'a pu être identifiée dans la littérature.

6.2.3.7. Les effets cellulaires et humoraux

Aucune donnée

6.2.4. L'exposition par d'autres voies

6.2.4.1. Les effets sur les organes

6.2.4.1.1. Les effets sur la peau et les muqueuses

Aucune donnée

6.2.4.1.2. Les effets sur le système respiratoire

Aucune donnée

6.2.4.1.3. Les effets sur le foie

Aucune donnée

6.2.4.1.4. Les effets sur les reins

Aucune donnée

6.2.4.1.5. Les effets sur le système gastro-intestinal

Dans une étude sur l'analyse de spécimens histologiques humains avec cas témoins, Gatti (2004) met en évidence une corrélation entre la présence de microparticules ou de NP, avec le cancer du colon et avec la maladie de Cröhn, une maladie inflammatoire de l'intestin. La composition des inclusions dans les tissus intestinaux était variée et l'auteur postule une association possible avec des

céramiques ou d'autres produits dentaires, des alliages prosthétiques, des polluants alimentaires ou l'exposition antérieure à des colorants à base de baryum.

6.2.4.1.6. Les effets sur le cœur et la circulation sanguine

L'exposition de cellules endothéliales aortiques humaines à du Fe₂O₃, du Y₂O₃ et du ZnO à des concentrations de 0,001 à 50 µg/mL a conduit à leur internalisation cellulaire dépendante de la dose pour les trois oxydes métalliques (Gojova *et al.*, 2007). L'oxyde de fer ne provoque pas de réponse inflammatoire à aucune des concentrations testées. Les oxydes d'yttrium et de zinc provoquent une forte réponse inflammatoire à une concentration de plus de 10 µg/mL. À la concentration maximale, les NP d'oxyde de zinc sont cytotoxiques et conduisent à une forte proportion de morts cellulaires (Gojova *et al.*, 2007).

6.2.4.1.7. Les effets sur le sang et le système hématopoïétique

Dans une expérience visant à évaluer la compatibilité sanguine de diverses formes du bioxyde de titane (TiO₂), Maitz *et al.* (2003) n'ont pas observé d'effet de la forme nanocristalline sur plusieurs paramètres du plasma humain riche en plaquettes (agrégation plaquettaire et temps de coagulation).

6.2.4.1.8. Les effets sur le système nerveux

Aucune donnée

6.2.4.2. Les effets immunologiques et allergiques

Aucune donnée

6.2.4.3. Les effets sur la reproduction et le système reproducteur

Braydich-Stolle *et al.* (2005, 2006) ont étudié la toxicité de NP d'Ag de différents diamètres sur des cellules de la lignée germinale mâle de souris (C18-4). Les auteurs n'ont observé aucune cytotoxicité pour les NP de 55, 80 et 130 nm, mais de la cytotoxicité a été observée avec les NP de 25 nm (CE₅₀⁶ : 100 µg/mL) et 30 nm (CE₅₀ : 25 µg/mL). Les auteurs ont également observé une perte de LDH par la membrane des cellules exposées aux NP de 25 nm (5 µg/mL) et 30-80 nm (10 µg/mL). De plus, les auteurs ont observé une diminution de l'activité de la kinase Fyn (membre de la famille des kinases cytoplasmiques Src impliquées dans la prolifération des spermatogonies souches normales) avec les NP de plus de 30 nm. Selon Braydich-Stolle *et al.* (2005), ces résultats suggèrent que la taille des NP joue un rôle dans le mécanisme de toxicité.

6.2.4.4. Les effets sur le développement

Aucune donnée

6.2.4.5. Les effets génotoxiques

Rahman *et al.* (2002) ont étudié le potentiel de particules de TiO₂ (≤ 20 et > 200 nm) à induire des changements chromosomiques (signalés par la présence de micronoyaux) dans des cellules embryonnaires de hamster doré. Les auteurs ont observé une augmentation significative de l'induction de micronoyaux dans les cellules exposées aux particules de 20 nm et moins (1,0 µg/cm²) après une

⁶ La concentration efficace 50 (CE₅₀) est la concentration qui cause de la toxicité chez 50 % des cellules.

exposition de 12, 24, 48, 66 et 72 h. Les auteurs ont également observé l'apoptose des cellules.

6.2.4.6. Les effets cancérogènes

La survie à un an de souris à tumeurs du sein induites dans l'expérience de Hainfeld *et al.* (2004) était élevée (86 %), même à la dose maximale de NP d'or (concentration de 270 mg/cc) administrée à des fins thérapeutiques par voie intraveineuse avant la radiothérapie. Ces résultats laissent croire à une faible toxicité de ce type de formulation.

Des sarcomes ont été observés chez des souris mâles et femelles suite à l'injection sous-cutanée de noir de carbone contenant une quantité appréciable d'hydrocarbures aromatiques polycycliques (HAP) (IARC, 1996, 2006a). L'injection sous-cutanée de noir de carbone dans lequel des HAP n'ont pas été détectés n'a pas provoqué de sarcomes.

6.2.4.7. Les effets cellulaires et humoraux

Stone *et al.* (2000) ont observé une augmentation (1,6 fois) du calcium (Ca^{2+}) cytosolique au repos dans des cellules monocytiques (Monomac 6) exposées à des particules ultrafines de noir de carbone (14 nm ; 66 $\mu\text{g}/\text{mL}$). L'exposition à des particules fines de noir de carbone (260 nm) n'a pas eu cet effet. Le calcium est impliqué dans l'activation de facteurs de transcription proinflammatoires (par exemple NF-kB) (Brown *et al.*, 2000). Selon Stone *et al.* (2000), les particules ultrafines de noir de carbone pourraient activer en partie l'ouverture des canaux à Ca^{2+} par un mécanisme impliquant des espèces réactives de l'oxygène et ainsi permettre l'entrée du Ca^{2+} extracellulaire dans les cellules. L'étude de Brown *et al.* (2000) a confirmé les résultats obtenus par Stone *et al.* (2000).

Wagner *et al.* (2001) ont exposé des macrophages alvéolaires de rat à des NP d'oxyde d'aluminium (Al_2O_3 ; 30 et 40 nm) et des NP d'aluminium pur (Al ; 50, 80 et 120 nm). De la toxicité a été observée 96 et 144 h après l'exposition aux NP d' Al_2O_3 (100 et 250 $\mu\text{g}/\text{mL}$). Les particules d'Al ont provoqué une légère toxicité après 24 h aux mêmes doses. Les auteurs ont également observé une diminution de la phagocytose chez les cellules exposées à 25 $\mu\text{g}/\text{mL}$ d'Al après 24 h. Les particules d'Al de 50 nm ont causé une diminution significative de la phagocytose à une dose de 5 $\mu\text{g}/\text{mL}$. Aucune réponse inflammatoire (production de NO, TNF- α ou MIP-2) n'a été observée suite à l'exposition aux 2 types de NP. Les auteurs concluent que les NP d'aluminium sont légèrement toxiques pour les macrophages alvéolaires de rat.

Renwick *et al.* (2001) ont exposé des macrophages alvéolaires (J774.2 M Φ) à des particules fines et ultrafines de TiO_2 (250 et 29 nm) et de noir de carbone (260,3 et 14,3 nm) pendant 8 h. Aucune cytotoxicité significative n'a été observée, mais une diminution de la capacité de phagocytose des macrophages a été observée à une concentration de 0,39 $\mu\text{g}/\text{mm}^2$ pour les particules ultrafines de noir de carbone et 0,78 $\mu\text{g}/\text{mm}^2$ pour toutes les particules. À toutes les concentrations, les particules ultrafines de noir de carbone ont eu un effet plus marqué que les autres particules sur les macrophages. De façon générale, les effets sur la phagocytose se sont manifestés à une concentration inférieure pour les particules ultrafines (0,39 $\mu\text{g}/\text{mm}^2$ comparativement à 0,78 $\mu\text{g}/\text{mm}^2$ pour les particules fines). Les auteurs

concluent que le ralentissement de la clairance des particules ultrafines dans les poumons est causé en partie par une diminution de la capacité de phagocytose des macrophages résultant de leur exposition à des particules.

Germain *et al.* (2003) ont comparé *in vitro* la cytotoxicité de NP d'un alliage de cobalt-chrome (Co/Cr)⁷ et de céramique d'alumine qui était produite par une usure simulée de prothèses articulaires. Deux concentrations ont été testées sur des histiocytes et des fibroblastes pulmonaires de souris. La viabilité cellulaire a été testée 5 jours après l'exposition. Les NP de Co/Cr (5 - 20 nm) provoquaient une cytotoxicité qui dépendait de la concentration (diminution de la viabilité cellulaire respectivement de 97 % et 42 % à 50 et 5 μm^3) et qui s'est avérée élevée sur les histiocytes humains ainsi que sur les fibroblastes de souris (diminution de 95 % et 73 %). Des particules de Co/Cr de 10 μm n'avaient pas d'effet significatif sur la viabilité cellulaire. Les NP de céramique d'alumine (5 - 20 nm) ne produisaient qu'une faible cytotoxicité sur les histiocytes humains (baisse de 18 %) et ce, à haute concentration seulement.

Des chercheurs se sont intéressés à l'étude de phénomènes cellulaires se manifestant par l'induction de divers mécanismes ou par la production de médiateurs de l'inflammation. Une étude *in vitro* de Lucarelli *et al.* (2004) a démontré que les NP de SiO₂ et de cobalt (Co) présentaient une activité proinflammatoire significative sur l'activité des monocytes de la moelle humaine, alors que les NP de TiO₂ et de ZrO₂ présentaient une activité plus faible.

Tkachenko *et al.* (2004) ont mis en évidence *in vitro* divers degrés de captation de particules d'or modifiées, par les noyaux de cellules tumorales humaines du col de l'utérus et du foie ainsi que par des cellules de fibroblastomes de souris. Les NP pouvaient traverser les trois barrières (membrane cellulaire, endosomale et nucléaire) pour atteindre le noyau. L'extrapolation de ces résultats à des cellules humaines saines demeure limitée, puisque seules des cellules tumorales ont été étudiées.

Peters *et al.* (2004), étudiant le comportement et la viabilité de cellules endothéliales humaines *in vivo*, observaient que les NP de PVC, TiO₂, de SiO₂ et de Co étaient incorporées dans les vacuoles des cellules. Les NP de Co démontraient un potentiel proinflammatoire et cytotoxique important, alors que celles de SiO₂ avaient un potentiel proinflammatoire faible et celles de TiO₂ un potentiel encore moindre, mais observable, en dépit du fait que cette substance est souvent considérée comme biologiquement amorphe. Les NP de PVC et de Ni n'engendraient pas ces effets.

La cytotoxicité *in vitro* de NP d'or MMPC 1 (NP cationique avec un complexe d'ammonium quaternaire) et MMPC 2 (NP anionique carboxylique, reconnue comme ne se liant pas à l'ADN) a été étudiée par Goodman *et al.* (2004) sur des cellules de primates, des globules rouges humains et des bactéries *E. Coli*. Les chercheurs ont observé la cytotoxicité des NP cationiques MMPC 1 après 1 heure d'incubation (DL₅₀ : 1,0 ± 0,5 pour les cellules de primates; 1,1 ± 0,1 pour les globules rouges humains ; 3,1 ± 0,6 pour les bactéries *E. Coli*). Les NP MMPC2 ne causaient pas de toxicité significative, même après 24 h d'incubation. Les auteurs postulent une interaction des NP avec la membrane cellulaire et la présence de mécanismes d'attraction électrostatique.

⁷ Les ions Co et Cr ont un potentiel sensibilisant et cancérigène.

Braydich-Stolle *et al.* (2005) ont étudié la toxicité de différentes NP sur des cellules de la lignée germinale mâle de souris (C18-4). Les auteurs ont incubé les cellules avec des NP d'argent (Ag ; 15 nm), de molybdène (MoO_3 ; 30 nm) et d'aluminium (Al ; 30 nm) à des concentrations de 5, 10, 25, 50 et 100 $\mu\text{g/mL}$ pendant 48 h. L'oxyde de cadmium (CdO ; 1000 nm) a été utilisé comme contrôle positif à des concentrations de 1, 2, 5, 10 et 25 $\mu\text{g/mL}$. Aucun changement dans la morphologie des cellules n'a été observé après 48 h d'incubation avec le MoO_3 (à toutes les concentrations). Le CdO a provoqué des changements morphologiques importants (rétrécissement et irrégularité des cellules) à 1 $\mu\text{g/mL}$ et les cellules se sont détachées du milieu de culture et sont devenues nécrosées à partir de 5 $\mu\text{g/mL}$. Les NP d'Ag ont provoqué l'apoptose et la nécrose de certaines parties des cellules à partir de 10 $\mu\text{g/mL}$. À une concentration inférieure à 10 $\mu\text{g/mL}$, les NP d'Al se sont accumulées dans le cytoplasme des cellules où elles ont formé des agrégats incapables de pénétrer le noyau, mais elles n'ont pas provoqué de nécrose, l'apoptose ou des changements morphologiques dans les cellules. Les NP d'Ag ont été les plus toxiques, mais toutes les NP testées étaient moins toxiques que le CdO (Braydich-Stolle *et al.*, 2005).

Dans leur étude, Braydich-Stolle *et al.* (2005) ont étudié la fonction mitochondriale des cellules exposées aux NP. L'oxyde de cadmium a inhibé l'activité des mitochondries à une concentration inférieure à 1 $\mu\text{g/mL}$ (CE_{50} : 0,5 $\mu\text{g/mL}$). En comparaison, le chlorure de cadmium considéré comme toxique n'a eu aucun effet significatif à une concentration inférieure à 5 $\mu\text{g/mL}$ (CE_{50} : 21,3 $\mu\text{g/mL}$). Les effets toxiques des NP d'argent (15 nm) sur les mitochondries ont commencé à se manifester entre 5 et 10 $\mu\text{g/mL}$ (CE_{50} : 8,75 $\mu\text{g/mL}$). En comparaison, le carbonate d'argent considéré comme non dangereux n'a eu aucun effet sur les mitochondries jusqu'à une concentration de 100 $\mu\text{g/mL}$ (CE_{50} : 408 $\mu\text{g/mL}$). Les NP de molybdène ont provoqué des effets toxiques sur l'activité métabolique des cellules à partir de 50 $\mu\text{g/mL}$ (CE_{50} : 90 $\mu\text{g/mL}$). En comparaison, le trioxyde de molybdène considéré comme modérément toxique pour l'humain et les animaux a une CE_{50} de 322 $\mu\text{g/mL}$. L'effet des NP d'aluminium sur l'activité des mitochondries n'a pu être évalué étant donné que les particules se sont accumulées et ont formé des agrégats dans le cytoplasme des cellules à faible concentration.

Braydich-Stolle *et al.* (2005) ont également évalué l'intégrité de la membrane cytoplasmique des cellules exposées aux NP. L'oxyde de cadmium a causé une perte dose-dépendante de LDH par la membrane cellulaire (EC_{50} : 2,5 $\mu\text{g/mL}$). Les NP ont également causé une perte dose-dépendante de LDH par la membrane cellulaire à faible concentration (CE_{50} Ag : 2,5 $\mu\text{g/mL}$; CE_{50} Al : 4,7 $\mu\text{g/mL}$; CE_{50} MoO_3 : 5 $\mu\text{g/mL}$). Enfin, les auteurs ont observé une augmentation dose-dépendante du nombre de cellules apoptotiques à des concentrations de 1-5 $\mu\text{g/mL}$ pour le CdO et 10-50 $\mu\text{g/mL}$ pour les NP. Le nombre de cellules nécrosées augmentait également en fonction de la concentration.

Barlow *et al.* (2005b) ont exposé du sérum fœtal de bovin à des particules fines de noir de carbone (260 nm de diamètre; 10 mg/mL) et des NP de noir de carbone (14 nm de diamètre; 5 et 10 mg/mL). Ils ont montré que des substances présentes dans le sérum exposé à 10 mg/mL de NP de noir de carbone étaient responsables d'une migration de 1,8 fois plus importante des macrophages (provenant

d'alvéoles de souris) que les particules fines de noir de carbone. L'effet semblait lié à un phénomène oxydatif, puisqu'il était diminué par l'ajout d'antioxydants.

Dans une autre étude, Barlow *et al.* (2005a) ont exposé des cellules épithéliales alvéolaires de type II de rat (lignée L-2) à des NP de noir de carbone (14,3 nm ; 6 h). Les cellules épithéliales de type II joueraient un rôle important dans le processus inflammatoire dans les poumons par la production de cytokines proinflammatoires. Ces dernières sont responsables de la migration des leucocytes aux sites d'inflammation (par chimiotaxie). Les auteurs ont observé une production significative de chimioattractants par les cellules de type II, mesurée par la migration des macrophages. Des NP de TiO₂ (29 nm) et des particules fines de carbone et de TiO₂ (260,2 et 250 nm respectivement) n'ont pas eu cet effet. Une augmentation dose-dépendante de la production de LDH suite à l'exposition aux quatre types de particules a également été observée. Les auteurs concluent que les NP de carbone sont fort probablement responsables de la production de chimioattractants par les cellules de type II.

Gurr *et al.* (2005) ont étudié l'effet de particules ultrafines de TiO₂ sur des cellules épithéliales bronchiales humaines (BEAS-2B) en absence de photoactivation. Des particules d'anatase de 10 et 20 nm (10 µg/mL) ont provoqué des dommages oxydatifs à l'ADN, une peroxydation des lipides, la formation de micronoyaux et une augmentation de la production de H₂O₂ et de NO dans les cellules. Des particules de 200 nm (ou plus) d'anatase n'ont pas induit de stress oxydatif en absence de lumière. Par contre, des particules de 200 nm de rutile ont induit une production de H₂O₂ et des dommages oxydatifs à l'ADN en absence de lumière. Enfin, le niveau de dommages oxydatifs à l'ADN des cellules a été légèrement plus élevé après une exposition à un mélange d'anatase et de rutile (200 nm ; 10 µg/mL pendant 1 h dans l'obscurité totale) comparativement à une exposition aux deux formes de TiO₂ séparément. Les auteurs concluent que plus la taille des particules est petite, plus leur potentiel pour induire un stress oxydatif est élevé (en absence de photoactivation). Les particules ultrafines de TiO₂ sont habituellement considérées comme biocompatibles en absence de photoactivation (Gurr *et al.*, 2005). L'exposition de microglies de souris *in vitro* à des NP de TiO₂ non photo-activées (2,5-120 ppm) a provoqué une production rapide (< 5 minutes) et prolongée (2 h) d'espèces réactives de l'oxygène de même que la phagocytose des NP par les microglies (Long *et al.*, 2006). Les auteurs ont également observé. La production prolongée d'espèces réactives de l'oxygène par les microglies pourrait causer des dommages aux cellules environnantes, notamment les neurones (Thrall, 2006).

Gupta et Gupta (2005) ont exposé des fibroblastes de la peau humaine à des NP (40-45 nm) d'oxyde de fer superparamagnétique (SPION) et à des SPION enrobées de pullulan (Pn-SPION) à des concentrations allant de 0 à 2,0 mg/mL. Les SPION se sont avérés toxiques pour les cellules alors que les Pn-SPION n'ont montré aucune toxicité. Les auteurs ont observé l'internalisation des deux types de particules, mais selon des mécanismes différents. Ils concluent que l'endocytose des particules est influencée par les caractéristiques de surface des particules.

Des cellules épithéliales pulmonaires humaines ont été exposées *in vitro* à des NP de silice contenant du fer, du cobalt, du manganèse et du titane de même qu'aux oxydes nanométriques de ces métaux. Les auteurs (Limbach *et al.* 2007) ont utilisé des particules très bien caractérisées ayant les mêmes morphologies, de

même que des dimensions, des formes et des degrés d'agglomération comparables. Ils ont démontré que ces particules pénètrent efficacement dans les cellules et provoquent jusqu'à huit fois plus de stress oxydatif dans le cas du cobalt et du manganèse que les solutions aqueuses des mêmes métaux. Ils concluent que l'évaluation du risque devrait également tenir compte des compositions chimiques et des propriétés catalytiques des NP.

Le tableau 3 résume les effets sur la santé documentés des NP inorganiques. Il permet de mettre en évidence que les informations existantes sont limitées et incomplètes, d'autant que cette liste tient compte de l'ensemble des NP ; les informations spécifiques à chacune sont quant à elles encore plus fragmentaires.

Tableau 3. Effets sur la santé documentés de certaines nanoparticules inorganiques¹

Effet	Nanoparticules inorganiques ²			
	Voie			
	Inhalation ³	Cutanée	Orale	Autres
Toxicocinétique	▲■	■	▲	▲■
Irritation				
Systemique ⁴				
Aigu	▲■		▲	▲
Intermédiaire	▲■		▲	▲
Chronique	▲■			
Neurologique				
Immunologique				
Développement				
Reproduction				▲
Génotoxique	▲	▲		▲
Cancer	▲■	▲■		▲

¹ Études existantes chez l'humain (■) ou l'animal (▲). Adapté de l'ATSDR.

² Nanoparticules inorganiques testées : carbone, cuivre et certains de ses composés (CuCl₂·2H₂O, CuO, CuO₂, Cu(OH)₂), or colloïdal, sélénium, bioxyde de titane (TiO₂), iridium-192, zinc, oxyde de cérium, oxyde d'aluminium, cobalt, argent, SiO₂, chrome, molybdène, oxyde de fer.

³ Incluant l'instillation intratrachéale.

⁴ Effet systémique : aigu (≤ 14 jours), intermédiaire (15 à 364 jours) et chronique (≥ 365 jours).

7. LES EFFETS DES NANOPARTICULES ORGANIQUES SUR LA SANTÉ

Tout comme pour les NP inorganiques (chapitre 6), les NP organiques insolubles sont constituées de diverses substances organiques, souvent des polymères insolubles auxquels peuvent être greffés différents radicaux organiques. Certaines substances sont susceptibles d'être solubilisées dans des conditions spécifiques. Généralement, seule leur dimension nanométrique distingue les NP organiques des mêmes produits de taille supérieure. Or ces particules sont produites précisément à cause de leurs propriétés uniques reliées à l'échelle nanométrique. Elles démontrent en effet, à cette échelle, des propriétés catalytiques, chimiques ou autres qui n'existent pas lorsque ces mêmes produits sont de plus grande dimension.

Les NP organiques peuvent également être modifiées par une substance biologique active piégée, encapsulée ou adsorbée à la surface (Zimmer, 1999). Leur intérêt réside entre autres dans leur utilisation pour le transport et le ciblage optimal des médicaments. Medina *et al.* (2007) font d'ailleurs le point sur l'utilisation des NP en pharmacologie. Des revues de la littérature concernant l'utilisation des systèmes nanoparticulaires pour le transport cérébral de différents médicaments ont notamment été effectuées par Kreuter (2001), Lockman *et al.* (2002, 2003) et Tiwari *et al.* (2006). Les différents systèmes utilisés (polymères enrobés ou non, etc.) se sont avérés être un outil efficace pour aider des médicaments à traverser la barrière hémato-encéphalique (dalargin, doxorubicine, etc.) chez plusieurs espèces animales. Des essais ont été effectués avec divers types de NP : des polymériques (Kante *et al.*, 1982; Couvreur *et al.*, 1982; Gibaud *et al.*, 1996; Sakuma *et al.*, 2002), des colloïdales (Nemmar *et al.*, 2002a, b), des nanotubes de carbone (Kostarelos *et al.* 2007) et des nanosphériques de nature lipidique (Fukui *et al.*, 2003). Récemment, Ryan *et al.* (2007) ont rapporté que les SWCNT peuvent inhiber certains mécanismes de réactions allergiques. Les résultats sont prometteurs quant à l'aspect thérapeutique, principalement pour les NP de nature polymérique, mais les données sont inadéquates en ce qui concerne leur toxicité en milieu de travail à cause de la voie non usuelle utilisée et des informations limitées en ce qui concerne leur évaluation toxicologique. Ces particules ne seront pas traitées de façon exhaustive dans le présent document.

7.1. La toxicocinétique

7.1.1 L'absorption

Alvarez-Román *et al.* (2004) ont étudié l'absorption cutanée de NP de polystyrène contenant du FITC (fluorescéine isothiocyanate-5) sur de la peau de porc. Ils ont observé que les NP de polystyrène (20 et 200 nm) se sont accumulées préférentiellement dans les follicules pileux. L'accumulation de NP dans les follicules pileux augmentait en fonction du temps et de la taille des particules, les plus petites (20 nm) démontrant une plus grande accumulation. Suite à l'application d'une solution saturée de FITC (non lié à des NP), le FITC a été observé principalement à la surface de la peau après 30 minutes et 1 h. Une concentration plus importante de FITC a cependant été observée dans les follicules pileux après 2 h d'exposition. Les auteurs ont également observé une accumulation des particules de 20 et 200 nm dans les sillons interpapillaires, mais aucune absorption n'a été observée à ces endroits. Le FITC s'est accumulé au niveau des cornéocytes.

7.1.2. La distribution

7.1.2.1. L'exposition par voie respiratoire

Aucune donnée

7.1.2.2. L'exposition cutanée

Aucune donnée

7.1.2.3. L'exposition par ingestion

Jani *et al.* (1990) ont montré que des NP de polystyrène (30, 100 et 300 nm) administrées par gavage chez le rat (1,25 mg/kg/jour pendant 10 jours) pouvaient être décelées dans le sang et plusieurs organes tels que le foie, la rate, etc. Aucune n'a été retrouvée dans le cœur et les poumons.

7.1.2.4. L'exposition par d'autres voies

Douglas *et al.* (1996) ont étudié la biodistribution des NP de poly(butyle 2-cyanoacrylate), enrobées ou non d'un polymère, chez le lapin (injection intraveineuse de 1 mL de chaque préparation). Les NP se sont localisées dans une proportion d'environ 60 % dans le foie et la rate alors qu'environ 30 % sont demeurées dans la circulation. L'enrobage n'a pas eu d'influence significative sur la distribution des NP.

Sakuma *et al.* (2002) ont montré que certaines NP polymériques hydrophiles (poly(N-isopropylacrylamide), poly(N-vinylacétamide), poly(vinyl-amine) et l'acide polyméthacrylique) administrées par perfusion augmentent la perméabilité du jéjunum du rat (partie de l'intestin) à la calcitonine de saumon (médicament hypocalcémiant).

Lockman *et al.* (2003) ont montré que des NP auxquelles sont ajoutées des émulsions de Brij78 et de Brij72/tween 80 n'ont pas d'effet *in vivo* chez le rat ou *in vitro* (cellules cérébrales de bovin) sur l'intégrité de la barrière hémato-encéphalique. Koziara *et al.* (2003) ont montré que des NP auxquelles sont ajoutées des émulsions de Brij78 et de Brij72 pouvaient traverser la barrière hémato-encéphalique chez le rat sans effet sur l'intégrité biologique de la barrière.

Lockman *et al.* (2004) ont étudié l'effet de la charge des NP sur l'intégrité et la perméabilité de la barrière hémato-encéphalique. Les auteurs ont exposé des rats à des NP de cire par perfusion dans la carotide gauche. Les NP neutres (74,7 ± 53,4 nm ; 10 et 20 µg/mL) et les NP anioniques à faible concentration (127,1 ± 70,6 nm ; 10 µg/mL) n'ont eu aucun effet aigu sur l'intégrité de la barrière hémato-encéphalique. Par contre, les NP anioniques à forte concentration (20 µg/mL) et les NP cationiques (97,2 ± 68,9 nm ; 10 et 20 µg/mL) ont eu un effet de rupture sur la barrière hémato-encéphalique en moins de 60 secondes. Les auteurs ont également observé une perméabilité supérieure pour les NP anioniques (7,93 ± 0,98 × 10⁻³ mL/s/g) comparativement aux NP neutres (4,10 ± 0,5 × 10⁻³ mL/s/g) et cationiques (2,73 ± 0,2 × 10⁻³ mL/s/g) à une concentration de 10 µg/mL.

Des NP de ferritine et de fer dextran ont été retrouvées dans les neurones du noyau hypoglosse après avoir été injectées dans la langue de souris (Oberdörster *et al.*, 2005b). Lorsqu'elles ont été injectées dans les muscles faciaux des souris, les mêmes particules ont été absorbées par les synapses. Par ailleurs, des cations de ferritine ont été détectés dans les neurones faciaux, ce qui indique que la charge des particules a une influence sur leur absorption par les axones et leur transport le long des axones (Oberdörster *et al.*, 2005b).

Kim *et al.* (2006) ont étudié la toxicité et la distribution de NP magnétiques de silice renfermant de la rhodamine B isothiocyanate. Les NP de 50 nm ont été administrées par injection intrapéritonéale à des souris ICR pendant 4 semaines (25, 50, 100 mg/kg). Une dose de 10 mg/kg a été utilisée pour évaluer les effets sur la barrière hémato-encéphalique. Les NP ont été détectées dans tous les organes incluant le cerveau, le foie, les poumons, les reins, la rate, le cœur, les testicules et l'utérus. Les plus fortes concentrations de NP ont été observées dans le foie et la rate alors que la distribution dans les poumons a été minimale. Les NP ont traversé la barrière hémato-encéphalique sans en affecter la perméabilité et ont été absorbées par les neurones. La distribution dans les organes était dépendante du temps.

7.1.2.5. *In vitro*

Aucune donnée

7.1.3. Le métabolisme

Aucune donnée

7.1.4. L'excrétion

Aucune donnée

7.2. Les effets selon les voies d'exposition (administration)

7.2.1. L'exposition par voie respiratoire

Des NP de polystyrène chargées positivement (60 nm) administrées par instillation intratrachéale à des hamsters (50 et 500 µg par animal) ont provoqué de l'inflammation dans les poumons (augmentation des neutrophiles, de la LDH et de l'histamine dans le liquide de lavage broncho-alvéolaire) et une thrombose vasculaire après 1 h (Nemmar *et al.*, 2003).

7.2.2. L'exposition cutanée

Aucune donnée

7.2.3. L'exposition par ingestion

Aucune donnée

7.2.4. L'exposition par d'autres voies

7.2.4.1. Les effets sur les organes

Les analyses biochimiques, hématologiques et histologiques effectuées par Kim *et al.* (2006) sur des souris exposées à des NP magnétiques de silice renfermant

de la rhodamine B isothiocyanate n'ont permis de mettre en évidence aucune toxicité apparente sur les organes après 4 semaines.

7.2.4.1.1. Les effets sur la peau et les muqueuses

Kante *et al.* (1982) n'ont pas observé d'effet irritant au site d'injection de NP de poly(cyanoacrylate d'isobutyle) et de poly(cyanoacrylate de polybutyle) (~ 0,2µm de diamètre, injection intraveineuse unique; 0, 12,5 à 40 mL/kg) lors d'un essai de détermination de la dose létale 50 (DL₅₀) chez la souris.

7.2.4.1.2. Les effets sur le système respiratoire

Aucune donnée

7.2.4.1.3. Les effets sur le foie

Fernandez-Urrusuno *et al.* (1997) ont démontré que l'injection intraveineuse de NP de poly(cyanoacrylate d'isobutyle) de 214 nm ou de NP de polystyrène de 128 nm, unique ou répétée pendant 14 jours, peut diminuer temporairement la défense antioxydante des hépatocytes isolés du rat.

7.2.4.1.4. Les effets sur les reins

Aucune donnée

7.2.4.1.5. Les effets sur le système gastro-intestinal

Aucune donnée

7.2.4.1.6. Les effets sur le cœur et la circulation sanguine

Aucune donnée

7.2.4.1.7. Les effets sur le sang et le système hématopoïétique

Aucune donnée

7.2.4.1.8. Les effets sur le système nerveux

Aucune donnée

7.2.4.2. Les effets immunologiques et allergiques

Meng *et al.* (2004), lors d'une évaluation de la biocompatibilité, n'ont pas observé d'effet néfaste chez l'animal (inflammation, etc.) lors de l'implantation musculaire d'un matériau composé de nanocristaux d'hydroxyapatite et de polyamide.

Tomazic-Jezic *et al.* (2006) ont injecté (la voie n'est pas précisée) des particules de polystyrène de 50 et 500 nm intactes ou enrobées d'antigènes à des souris. Les concentrations ne sont pas spécifiées. Les auteurs ont observé une infiltration de monocytes et de macrophages au site d'injection avec les deux types de particules. Aucune toxicité au niveau du foie, des reins ou des poumons n'a été observée. Les deux types de particules ont eu un effet adjuvant sur la production de IgG, mais les NP de 50 nm ont également augmenté la production d'anticorps IgE.

7.2.4.3. Les effets sur la reproduction et le système reproducteur

Aucune donnée.

7.2.4.4. Les effets sur le développement

Bosman *et al.* (2005) ont exposé des embryons de souris au stade 2 cellules et au stade blastocyste à des NP de polystyrène (40-120 nm ; 11,0 millions/mL). Les auteurs n'ont observé aucune différence dans l'éclosion, l'implantation et la dégénérescence des embryons par rapport aux contrôles. Les NP n'ont pas inhibé le développement des embryons jusqu'au stade blastocyste. Les NP plus petites ont été internalisées par endocytose ou pinocytose, mais aucun effet sur le développement des embryons n'a été observé. Les NP étaient localisées principalement dans les trophoblastes.

7.2.4.5. Les effets génotoxiques

Kante *et al.* (1982) n'ont pas observé d'effet mutagène des NP de poly(cyanoacrylate de butyle) et de poly(cyanoacrylate de méthyle) ainsi que de leurs produits de dégradation lors du test de Ames (5 souches de *Salmonella typhimurium*).

Leong-Morgenthaler *et al.* (1997) ont montré que le benzo(a)pyrène dissous dans l'huile de tournesol et encapsulé dans des NP lipidiques exerçait une action mutagène sur des cellules humaines *in vitro* similaire au benzo(a)pyrène dissous dans le sulfoxyde de diméthyle. Une seule dose a été testée.

Kim *et al.* (2006) ont observé une augmentation du nombre de mutations réverses lors du test de Ames effectué avec des NP magnétiques de silice renfermant de la rhodamine B isothiocyanate (50 nm). Toutefois, les changements observés ne dépendaient pas de la concentration et n'étaient pas reproductibles. On ne peut conclure quant à la toxicité de ces NP.

7.2.4.6. Les effets cancérigènes

Aucune donnée

7.2.4.7. Les effets cellulaires et humoraux

Aucune donnée

Le tableau 4 résume les effets sur la santé documentés des NP organiques qui ont été retenues pour l'étude. Il permet de mettre en évidence les informations existantes limitées et incomplètes.

Tableau 4. Effets sur la santé documentés de certaines nanoparticules organiques¹

Effet	Nanoparticules organiques ²			
	Voie			
	Inhalation ³	Cutannée	Orale	Autres
Toxicocinétique		▲	▲	▲
Irritation				▲
Systémique ⁴				
	Aigu	▲		▲
	Intermédiaire			
Chronique				
Neurologique				
Immunologique				▲
Développement				▲
Reproduction				
Génotoxique				▲
Cancer				

¹ Études existantes chez l'humain (■) ou l'animal (▲). Adapté de l'ATSDR.

² Nanoparticules organiques testées : fluorescéine isothiocyanate-5 (FITC), polystyrène, poly(butyle 2-cyanoacrylate, poly(N-isopropylacrylamide), poly(N-vinylacétamide), poly(vinyl-amine), acide polyméthacrylique, ferritine, fer dextran, silice magnétique, poly(cyanoacrylate d'isobutyle), poly(cyanoacrylate de polybutyle), poly(cyanoacrylate de méthyle) hydroxyapatite, polyamide, cire.

³ Incluant l'instillation intratrachéale.

⁴ Effet systémique : aigu (≤ 14 jours), intermédiaire (15 à 364 jours) et chronique (≥ 365 jours).

8. LES EFFETS DES NANOCAPSULES, NANOSPHERES ET NANOCOQUILLES ET DENDRIMÈRES SUR LA SANTÉ

Les nanocapsules, les nanosphères et les nanocoquilles peuvent être constituées d'une grande variété de polymères organiques insolubles. Plusieurs de ces structures sont développées afin de pouvoir y intégrer d'autres substances, souvent des médicaments. La surface de ces NP peut également être modifiée afin d'interagir spécifiquement avec certains sites de l'organisme. À cause de leurs dimensions nanométriques, ces particules peuvent circuler dans un organisme vivant, servir de vecteur de médicaments ou encore se fixer à des cellules spécifiques. Elles représentent un secteur de recherche très actif dont les retombées au niveau médical pourraient être majeures.

8.1. La toxicocinétique

8.1.1 L'absorption

En 1987, Aprahamian *et al.* ont démontré l'absorption intestinale d'un médicament (le Lipiodol) transporté par des nanocapsules polymériques d'environ 300 nm chez des chiens. En moins d'une heure après l'injection intra-intestinale du médicament et la laparotomie des animaux, les nanocapsules ont été observées dans la lumière du jéjunum (petit intestin) puis dans les espaces intracellulaires, dans la lamina propria et finalement dans les capillaires intestinaux.

8.1.2. La distribution

8.1.2.1. L'exposition par voie respiratoire

Aucune donnée

8.1.2.2. L'exposition cutanée

Aucune donnée

8.1.2.3. L'exposition par ingestion

Aucune donnée

8.1.2.4. L'exposition par d'autres voies

Dans une étude de Malik *et al.* (2000), des dendrimères PAMAM (poly(amidoamine)) cationiques (marqués à l'iode-125) administrés par injection intraveineuse ou intrapéritonéale à des rats Wistar ont été éliminés rapidement de la circulation sanguine. Seulement 0,1-1,0 % de la dose d'environ 10 µg/mL ont été retrouvés dans le sang une heure après l'injection. Le foie a été identifié comme organe d'accumulation avec 60-90 % de la dose. Les dendrimères anioniques ont montré un temps de résidence dans le sang plus long.

Dans une étude faite chez le rat, Cahouet *et al.* (2002) ont injecté, par voie intraveineuse, des nanocapsules (20 à 100 nm) possédant un noyau lipidique et une coquille de 2-hydroxy-stéarate de polyéthylène glycol (PEG) et lécithine. Les nanocapsules étaient marquées à l'iode-125 et au technétium-99. Les auteurs ont observé une persistance plus longue que celle attendue des nanocapsules dans le compartiment sanguin. Ils l'attribuent à l'enrobage par le PEG. Les nanocapsules se sont distribuées dans le foie, les intestins, l'estomac et le pénis des animaux, mais il n'y a pas eu de distribution cérébrale significative.

Nigavekar *et al.* (2004) ont étudié la distribution de dendrimères PAMAM (5 nm) chez des souris C57BL/6J mâles auxquelles on a injecté des cellules de mélanome

de souris (B16F10) et chez des souris nues (nu/nu) mâles auxquelles on a injecté des cellules humaines de carcinome de la prostate (DU145). 500 µL d'une solution contenant 8,8 µg de dendrimères chargés positivement et 17,5 µg de dendrimères neutres ont été administrés par injection intraveineuse aux souris C57BL/6J. Les souris nues ont reçu uniquement les dendrimères chargés positivement. Les auteurs ont observé une distribution homogène des dendrimères dans le foie des souris indiquant qu'une distribution uniforme des NP dans les organes vasculaires a eu lieu après l'administration. Les dendrimères ont été rapidement éliminés du sang et les NP ont été retrouvées dans tous les organes majeurs ainsi que dans les tissus tumoraux. La déposition des dendrimères chargés positivement a été plus élevée que celle des dendrimères neutres. La plus grande absorption de NP a eu lieu dans les poumons, les reins et le foie une heure après l'injection alors que la plus faible absorption a eu lieu dans le cerveau. Aucune toxicité aiguë n'a été observée.

8.1.2.5. *In vitro*

Aucune donnée

8.1.3. Le métabolisme

Aucune donnée.

8.1.4. L'excrétion

L'élimination digestive de NP radiomarquées à l'iode-125 et au technétium-99 a été notée dans l'étude de Cahouet *et al.* (2002) faite chez le rat. Après 24 h, de l'iode-125 était encore excrété dans l'urine des animaux.

Nigavekar *et al.* (2004) ont observé une élimination initiale rapide dans l'urine des dendrimères administrés aux souris dans les 24 h suivant l'injection. Par la suite, le niveau des NP est demeuré relativement stable et a diminué de façon très lente au cours du temps. Une proportion de 48,3 % des dendrimères neutres et 29,6% des dendrimères chargés positivement ont été excrétés dans l'urine après 7 jours. Les dendrimères ont été excrétés de façon moins importante dans les fèces au cours de la même période (5,41% des dendrimères neutres et 2,96% des dendrimères chargés positivement). Les auteurs supposent que des dendrimères non excrétés sont déposés dans le système microvasculaire de divers organes et sont internalisés par l'endothélium ou les cellules adjacentes à l'endothélium.

8.2. Les effets selon les voies d'exposition (administration)

8.2.1. L'exposition par voie respiratoire

8.2.1.1. Les effets sur les organes

8.2.1.1.1. Les effets sur la peau et les muqueuses

Aucune donnée

8.2.1.1.2. Les effets sur le système respiratoire

Dailey *et al.* (2006) ont exposé des souris Balb-C à des NP biodégradables de poly (acide lactique-co-glycolique) et de DEAPA-PVAL-g-PLGA (un dérivé de PLGA) de même qu'à des nanosphères de polystyrène de 75 et 220 nm (instillation intratrachéale de 1 et 2,5 µg/mL). Les auteurs ont observé une augmentation de marqueurs de l'inflammation (LDH, protéines, ARNm de MIP-

2, neutrophiles) dans le liquide provenant du lavage broncho-alvéolaire des souris exposées aux nanosphères de 75 nm. Après 24 h, les neutrophiles représentaient 41 et 74% des cellules présentes dans le liquide provenant du lavage broncho-alvéolaire des souris exposées aux nanosphères de 75 et 220 nm respectivement. Les particules biodégradables de diamètre comparable ont provoqué une réponse inflammatoire plus faible et le recrutement de neutrophiles était comparable à celui des souris exposées à une solution isotonique de glucose (contrôle).

8.2.1.1.3. Les effets sur le foie

Aucune donnée

8.2.1.1.4. Les effets sur les reins

Aucune donnée

8.2.1.1.5. Les effets sur le système gastro-intestinal

Aucune donnée

8.2.1.1.6. Les effets sur le cœur et la circulation sanguine

Aucune donnée

8.2.1.1.7. Les effets sur le sang et le système hématopoïétique

Des lapins exposés à $70 \mu\text{g}/\text{m}^3$ de nanosphères (non identifiées) pendant 3 h ont montré un temps de coagulation 2 fois plus rapide que des lapins exposés à de l'air ne contenant pas de nanosphères (Raloff, 2005). Des vaisseaux sanguins dans les oreilles des lapins avaient été préalablement endommagés par les chercheurs à l'aide d'un laser.

8.2.1.1.8. Les effets sur le système nerveux

Aucune donnée

8.2.1.2. Les effets immunologiques et allergiques

Aucune donnée

8.2.1.3. Les effets sur la reproduction

Aucune donnée

8.2.1.4. Les effets sur le développement

Aucune donnée

8.2.1.5. Les effets génotoxiques

Aucune donnée

8.2.1.6. Les effets cancérigènes

Aucune donnée

8.2.1.7. Les effets cellulaires et humoraux

Aucune donnée

8.2.2. L'exposition cutanée

Aucune donnée

8.2.3. L'exposition par ingestion

Aucune donnée

8.2.4. L'exposition par d'autres voies

8.2.4.1. Les effets sur les organes

8.2.4.1.1. Les effets sur la peau et les muqueuses

Aucune donnée

8.2.4.1.2. Les effets sur le système respiratoire

Aucune donnée

8.2.4.1.3. Les effets sur le foie

Aucune donnée

8.2.4.1.4. Les effets sur les reins

Aucune donnée

8.2.4.1.5. Les effets sur le système gastro-intestinal

Aucune donnée

8.2.4.1.6. Les effets sur le cœur et la circulation sanguine

Aucune donnée

8.2.4.1.7 Les effets sur le sang et le système hématopoïétique

Dans une étude de Malik *et al.* (2000), des dendrimères cationiques PAMAM, DAB (poly(propylène imine)) et DAE (diaminoéthane) ont causé une hémolyse des globules rouges de rat (dans une solution saline) après une heure à une concentration supérieure à 1 mg/mL. Pour les dendrimères PAMAM, l'effet hémolytique dépendait de la génération⁸ (ceux de génération 1 n'ont pas eu d'effet). Des changements dans la morphologie des globules rouges ont été observés à une concentration de 10 µg/mL avec les dendrimères PAMAM et DAB (après une heure).

8.2.4.1.8. Les effets sur le système nerveux

Aucune donnée

8.2.4.2. Les effets immunologiques et allergiques

Aucune donnée

8.2.4.3. Les effets sur la reproduction et le système reproducteur

Aucune donnée

8.2.4.4. Les effets sur le développement

Aucune donnée

⁸ Les générations correspondent aux couches successives de molécules qui sont ajoutées au cours de la production des dendrimères. L'addition de ces couches a pour effet de faire augmenter la taille des molécules et le nombre de groupements de surface. Par exemple, la croissance des dendrimères PAMAM entre les générations 1 et 10 a pour effet de les faire passer de 1,1 à 12,4 nm de diamètre (Duncan et Izzo, 2005).

8.2.4.5. Les effets génotoxiques

Aucune donnée

8.2.4.6. Les effets cancérogènes

Aucune donnée

8.2.4.7. Les effets cellulaires et humoraux

Une étude de Roberts *et al.* (1996) citée par Duncan et Izzo (2005) a mis en évidence une diminution de la viabilité des fibroblastes de poumons de hamster chinois (V79) exposés à des dendrimères PAMAM cationiques. Une concentration de 1 nM (~ 7 ng/mL ; génération 3) a provoqué la mort de 90 % des cellules alors que des concentrations de 10 nM (~ 280 ng/mL) pour la génération 5 et 100 nM pour la génération 7 ont été nécessaires pour provoquer la mort d'autant de cellules. La cytotoxicité des dendrimères possédant un groupement NH₂ en position terminale est concentration-dépendante et habituellement génération-dépendante (Duncan et Izzo, 2005).

Torres-Lugo *et al.* (2002) ont étudié *in vitro* la cytotoxicité de nanosphères d'hydrogel, substances pouvant contourner la voie digestive haute et agir comme vecteurs pharmacologiques directement dans l'intestin. Utilisant des cultures de cellules intestinales humaines auxquelles des nanosphères d'acide méthacrylique d'éthylène glycol ont été ajoutées, les auteurs concluent à la faible toxicité de ce nanomatériau. Une altération réversible de la résistance électrique des cellules épithéliales, ainsi que l'ouverture des complexes jonctionnels membranaires étaient toutefois observées, soulevant la possibilité du transport cellulaire du nanocomplexe.

Les résultats d'une étude de Hong *et al.* (2004) rapportés par Duncan et Izzo (2005) ont montré que des dendrimères PAMAM de génération 7 (10-100 nM) ont provoqué la formation de trous de 15 à 40 nm de diamètre dans une bicouche lipidique de DMPC (1,2-dimyristoyl-*sn*-glycero-3-phosphocholine) alors que des dendrimères PAMAM de génération 5 n'ont fait qu'élargir des trous à des endroits déjà endommagés. Les dendrimères PAMAM de génération 5 ne seraient pas cytotoxiques jusqu'à une concentration de 500 nM (Duncan et Izzo, 2005). De plus, des dendrimères PAMAM de génération 5 possédant un groupement terminal d'acétamide (C₂H₅NO) n'ont eu aucun effet sur l'intégrité de la membrane cellulaire jusqu'à une concentration de 500 nM.

Dans une étude *in vitro*, Zhou *et al.* (2005) démontrent que l'utilisation d'une formulation de nanosphères pour administrer du trioxyde d'arsenic réduit la toxicité sanguine de ce produit utilisé contre le cancer de la vessie et rend son action plus spécifique aux cellules cancéreuses.

Duncan et Izzo (2005) ont comparé la cytotoxicité de dendrimères PAMAM, DAB et DAE sur 3 lignées cellulaires (cellules de mélanome de souris (B16F10), cellules de leucémie lymphoblastique humaine (CCRF) et cellules d'hépatome humain (HepG2)) après une incubation de 72 h. Les auteurs ont observé des CI₅₀ variant de 50 à 300 µg/mL pour la génération 4 des dendrimères PAMAM, DAB et DAE. Les générations 1 à 4 des dendrimères PAMAM cationiques étaient cytotoxiques et présentaient des CI₅₀ similaires au PLL (poly(L-lysine) utilisé comme contrôle. Les dendrimères PAMAM étaient légèrement moins toxiques que les dendrimères DAB dont la fonctionnalité de surface est équivalente. Des changements considérables dans la morphologie

des cellules B16F10 ont été observés suite à l'exposition aux dendrimères DAB et DAE (1 h ; 1 mg/mL). L'incubation des cellules B16F10 avec des dendrimères PAMAM pendant 1 h (génération 4 ; 5 µg/mL) n'a pas eu d'effet sur la morphologie des cellules, mais des signes de dommages à la membrane cellulaire ont été observés après 5 h d'incubation.

Duncan et Izzo (2005) soulignent que la cytotoxicité des dendrimères dépend davantage de la nature de leur surface que de la chimie du centre de la molécule. Dans une étude de Chen *et al.* (2004) citée par Duncan et Izzo (2005), des dendrimères cationiques ont exercé une plus grande toxicité que des dendrimères anioniques ou enrobés de PEG sur des cellules de foie de rat (Clone 9) exposées pendant 3 h. Des dendrimères PAMAM-OH ont été moins toxiques que des PAMAM-NH₂ à cause de l'enrobage des charges positives internes par les groupements hydroxyles en surface (Duncan et Izzo, 2005).

Le tableau 5 résume les effets sur la santé de nanocapsules, nanosphères, nanoquilles et dendrimères.

Tableau 5. Effets sur la santé documentés de certaines nanocapsules, nanosphères, nanoquilles et dendrimères¹

Effet	Nanocapsules, nanosphères, nanoquilles et dendrimères ²			
	Voie			
	Inhalation ³	Cutanée	Orale	Autres
Toxicocinétique				▲
Irritation				
Systemique ⁴				
Aigu	▲			
Intermédiaire				
Chronique				
Neurologique				
Immunologique				
Développement				
Reproduction				
Génotoxique				
Cancer				

¹ Études existantes chez l'humain (■) ou l'animal (▲). Adapté de l'ATSDR.

² Nanocapsules, nanosphères, nanoquilles et dendrimères testés : nanosphères (polystyrène 75, hydrogel, acide méthacrylique d'éthylène glycol), dendrimères (poly(amidoamine), poly(propylèneimine, diaminoéthane), poly (acide lactique-co-glycolique) (PLGA)).

³ Incluant l'instillation intratrachéale.

⁴ Effet systémique : aigu (≤ 14 jours), intermédiaire (15 à 364 jours) et chronique (≥ 365 jours).

9. LES EFFETS DES POINTS QUANTIQUES SUR LA SANTÉ

Les points quantiques (ou nanocristaux) sont des NP hétérogènes constituées d'un noyau colloïdal entouré d'un ou plusieurs enrobages de surface (Ryman-Rasmussen *et al.*, 2006). Leur taille varie de 2 à 100 nm (Hardman, 2006). Le noyau des points quantiques peut être composé entre autres de semi-conducteurs, de métaux nobles ou de métaux de transition magnétiques (Hardman, 2006). Le nombre d'atomes des points quantiques, qui peuvent varier de 1 000 à 100 000, en fait ni une structure solide étendue, ni une entité moléculaire (Aitken *et al.*, 2004). Les principales recherches ont porté sur les points quantiques semi-conducteurs qui démontrent des effets quantiques distinctifs selon les dimensions. La lumière émise peut être ajustée à la longueur d'onde désirée en modifiant la dimension de l'ensemble (Aitken *et al.*, 2004).

À cause de leur diversité, les points quantiques ne peuvent pas être considérés comme un groupe uniforme de nanomatériaux et leur toxicité devra être caractérisée de façon individuelle selon chaque type de points quantiques (Hardman, 2006).

9.1. La toxicocinétique

9.1.1 L'absorption

Les points quantiques sont utilisés comme sondes fluorescentes dans l'imagerie médicale diagnostique et en thérapeutique, en raison de leurs propriétés optiques et de leur capacité à établir des liens covalents avec des peptides, des anticorps, des acides nucléiques ou avec d'autres molécules de faible poids (Smith *et al.* 2004). Chan et Nie en 1998, cités par Smith *et al.* (2004), ont été les premiers à démontrer *in vivo* que des points quantiques de CdSe / ZnS enrobés d'acide mercaptoacétique pouvaient se lier à la transferrine sanguine. Ce complexe fluorescent était sélectivement absorbé par des cellules cancéreuses.

Ryman-Rasmussen *et al.* (2006) ont étudié l'absorption de différents types de points quantiques dans la peau de porc intacte. Les auteurs ont observé que les points quantiques sphériques enrobés de polyéthylène glycol (PEG ; 35 nm), d'acide carboxylique (14 nm) et de PEG-amine (15 nm) ont été absorbés par la peau après 8 h d'exposition. Les points quantiques enrobés de PEG et d'acide carboxylique ont été retrouvés principalement dans l'épiderme alors que les points quantiques enrobés de PEG-amine ont été retrouvés principalement dans le derme. Les points quantiques ellipsoïdes enrobés de PEG (45 nm) et de PEG-amine (20 nm) ont été retrouvés principalement dans l'épiderme après 8 h. Par contre les points quantiques ellipsoïdes enrobés d'acide carboxylique (18 nm) n'ont été absorbés qu'après 24 h. Les auteurs concluent que la peau est perméable aux nanomatériaux et qu'elle peut servir de porte d'entrée pour les points quantiques et les autres nanomatériaux autant chez les producteurs que les utilisateurs de ces matériaux. De plus, les résultats indiquent qu'aucun stress mécanique (par exemple abrasion) n'est nécessaire pour que les nanomatériaux pénètrent la peau. Le mécanisme impliqué serait la diffusion passive à travers les espaces intercellulaires. Cette conclusion ne semble par contre pas applicable à toutes les substances. Ainsi, Tinkle *et al.* (2003) ont démontré que des particules de 0,5 et 1,0 μm de béryllium ont pénétré la couche cornée pour rejoindre l'épiderme et occasionnellement le derme dans des échantillons de peau humaine soumis à une flexion simulant le mouvement d'un poignet (20 flexions par

minute). Les auteurs suggéraient que le mouvement était nécessaire à la pénétration des particules de béryllium dans la peau.

9.1.2. La distribution

9.1.2.1. L'exposition par voie respiratoire

Aucune donnée

9.1.2.2. L'exposition cutanée

Aucune donnée

9.1.2.3. L'exposition par ingestion

Aucune donnée

9.1.2.4. L'exposition par d'autres voies

Dubertret *et al.* (2002) ont mis en évidence le transfert de points quantiques de CdSe/ZnS (enrobés de PEG-PE et PC et conjugués à un oligonucléotide) à des cellules filles au cours de la division cellulaire dans des embryons de la grenouille *Xenopus*. Les auteurs ont observé des points quantiques dans les cellules filles après plusieurs jours de développement (jusqu'au stade têtard). Les points quantiques étaient présents dans le cytoplasme et dans l'enveloppe du noyau des cellules embryonnaires.

Dans une étude par voie intraveineuse chez la souris, Akerman *et al.* (2002) rapportent que la nature de l'enrobage de points quantiques de CdSe / ZnS pouvait modifier la distribution de ces nanomatériaux dans les tissus et organes. Il s'est avéré que l'enrobage avec le PEG diminuait d'environ 95 % la captation par le foie et la rate et prolongeait la demi-vie sanguine des points quantiques. D'autres types d'enrobages peptidiques augmentaient la distribution dans les poumons ou dans les tumeurs du sein qui ont été induites lors de l'expérience. Les auteurs notent l'absence de points quantiques dans la peau recouvrant le site tumoral, dans le cerveau et dans les reins des animaux.

Une étude de Kim *et al.* (2004) citée par Oberdörster *et al.* (2005b) a confirmé que des points quantiques administrés par injection intradermique ont été retrouvés dans les ganglions lymphatiques après avoir pénétré le derme. L'étude a été menée chez des souris et des porcs. Les macrophages et les cellules de Langerhans de la peau seraient possiblement responsables du transport vers les ganglions lymphatiques (Oberdörster *et al.*, 2005b).

Dans une étude de Hoshino *et al.* (2004) citée par Hardman (2006), des cellules EL-4 contenant des points quantiques de CdSe/ZnS-SSA ont été observées dans les reins, le foie, les poumons et la rate de souris jusqu'à sept jours après leur administration par injection. La rate et les poumons ont montré une plus grande accumulation.

Dans une autre étude citée par Hardman (2006), Ballou *et al.* (2004) ont observé une déposition différentielle dans les tissus et organes de souris exposées à des points quantiques possédant des enrobages de poids moléculaires différents. La déposition était fonction du temps et de la taille des points quantiques. Les points quantiques de plus haut poids moléculaire (5000) sont demeurés dans la circulation sanguine pendant au moins 3 h alors que les points quantiques de plus faible poids moléculaire (750) ont été éliminés du sang en moins d'une heure et ont été retrouvés dans les ganglions lymphatiques, le foie et la moelle osseuse

24 h après l'injection. Les points quantiques de plus faible poids moléculaire étaient encore présents dans les ganglions lymphatiques et la moelle osseuse 133 jours après l'injection.

9.1.2.5. *In vitro*

Parak *et al.* (2002), cités par Hardman (2006), ont observé l'endocytose de même que l'entreposage et le transport vésiculaire de points quantiques de CdSe/ZnS enrobés de bioxyde de silicone dans la région périnucléaire de cellules de tumeurs mammaires humaines.

Dubertret *et al.* (2002) ont également mis en évidence l'endocytose et le transport actif de points quantiques de CdSe/ZnS enrobés de *n*-poly(éthylène glycol) phosphatidyle éthanolamine (PEG-PE) et phosphatidylcholine (PC) suite à leur injection dans des embryons de la grenouille *Xenopus*.

Une étude de Kloepfer *et al.* (2003), citée par Hardman (2006), a mis en évidence une augmentation de la fluorescence (attribuée à l'oxydation intracellulaire des points quantiques) et de la concentration intracellulaire en Se dans des cultures de *Staphylococcus aureus* après deux semaines d'exposition à des points quantiques conjugués à de la transferrine. Les auteurs ont observé l'internalisation de Cd et de Se libres par les cellules, mais aucune internalisation des points quantiques.

Jaiswal *et al.* (2003), cités par Hardman (2006), ont observé l'incorporation par endocytose de points quantiques de CdSe/ZnS conjugués à de l'avidine et du DHLA par l'amibe *Dictyostelium discoideum* (AXS) et des cellules HeLa.

L'incorporation de points quantiques de CdSe/ZnS conjugués à de l'acide méthacrylique (MAA) dans des hépatocytes de rats a été observée par Derfus *et al.* (2004).

Hoshino *et al.* (2004a) cités par Hardman (2006) ont observé l'adhérence de points quantiques de CdSe/ZnS conjugués à de l'albumine de sérum de mouton (SSA) à la surface de cellules EL-4. Les auteurs ont ensuite observé l'incorporation des points quantiques par endocytose et une augmentation de la concentration cytosolique en fonction du temps.

Dans une étude citée par Hardman (2006), Chen et Gerion (2004) ont observé des points quantiques de CdSe/ZnS conjugués à un peptide de signalisation nucléaire du virus SV40 dans le compartiment nucléaire de cellules HeLa.

Lovric *et al.* (2005) ont exposé des cellules de phéochromocytome de rat (PC12) et des microglies de souris (lignée N9) à des points quantiques de CdTe (enrobés d'acide mercaptopropionique ou de cystéamine). Les points quantiques cationiques rouges (5,2 nm ; 3,75 et 37,5 µg/mL) ont été distribués dans le cytoplasme des cellules PC12, mais n'ont pas été détectés dans le noyau. Le même phénomène a été observé dans les cellules N9 après une heure d'exposition. Par contre, les points quantiques cationiques verts (2,2 nm) ont été retrouvés principalement dans le noyau (après 1 h). Les points quantiques verts conjugués à de l'albumine de sérum de bovin ont été observés principalement dans le cytoplasme. Les auteurs concluent que la distribution des points quantiques dans la cellule est influencée en partie par leur taille.

Dans une étude de Lidke *et al.* (2004) citée par Hardman (2006), des points quantiques conjugués au facteur de croissance de l'épiderme (CdSe/ZnS-EGF) ont été rapidement internalisés dans les endosomes de cellules ovariennes de

hamster chinois. L'internalisation des points quantiques peut donc se produire par l'intermédiaire de récepteurs membranaires lorsque les points quantiques portent des molécules spécifiques pour un type de récepteurs (par exemple erbB1 pour les points quantiques de CdSe/ZnS-EGF) ou des protéines en surface (Hardman, 2006).

9.1.3. Le métabolisme

Dans une étude de Hoshino *et al.* (2004a) citée par Hardman (2006), environ 10 % des cellules EL-4 incubées avec des points quantiques de CdSe/ZnS-SSA renfermaient toujours des points quantiques après 10 jours de culture. L'intensité de fluorescence était concentrée dans les vésicules d'endocytose, ce qui suggère une dégradation intracellulaire des points quantiques (Hardman, 2006). Ces auteurs ont d'ailleurs observé une diminution de la fluorescence, possiblement causée par un faible pH, l'oxydation des structures de surface des points quantiques ou la présence de facteurs intracellulaires adsorbés à la surface des points quantiques.

Les résultats d'une étude de Gao *et al.* (2004), citée par Hardman (2006), suggèrent que les ligands et les enrobages en surface des points quantiques sont lentement dégradés *in vivo*, ce qui conduit à une altération de leur surface et à une diminution de la fluorescence. Ils ont toutefois observé que des points quantiques enrobés d'un copolymère de haut poids moléculaire et possédant une chaîne latérale alkyle à 8 carbones démontraient une plus grande stabilité *in vivo* que des points quantiques enrobés d'un polymère simple ou de lipides amphiphiles. Dans une autre étude citée par Hardman (2006), Aldana *et al.* (2001) ont observé que la stabilité photochimique de nanocristaux de CdSe était reliée à l'épaisseur et à la densité de la monocouche de ligands.

Dans une étude citée par Hardman (2006), Hoshino *et al.* (2004b) ont observé que l'enrobage de surface des points quantiques pouvait se détacher dans des conditions acides ou oxydantes dans les vésicules d'endocytose et être libéré dans le cytoplasme des cellules.

9.1.4. L'excrétion

Akerman *et al.* (2002) ont observé que l'enrobage de points quantiques de CdSe/ZnS par du PEG a presque entièrement supprimé l'élimination non spécifique des points quantiques par le système lymphatique.

De façon générale, les points quantiques sont éliminés par les organes et systèmes primaires d'excrétion comme le foie, la rate et le système lymphatique (Hardman, 2006).

Des points quantiques de CdSe/ZnS enrobés de PEG administrés par injection sous-cutanée à des souris ont été éliminés du site d'injection et se sont accumulés dans les ganglions lymphatiques (Hardman, 2006).

9.2. Les effets selon les voies d'exposition (administration)

9.2.1. L'exposition par voie respiratoire

Selon Hardman (2006), l'exposition par inhalation peut poser des risques potentiels étant donné que des études ont montré que des points quantiques ont été incorporés par endocytose dans différents types de cellules et qu'ils peuvent y résider pendant des semaines voire des mois. On ignore si les points quantiques forment des agrégats dans l'air ambiant (Hardman, 2006).

9.2.2. L'exposition cutanée

Les risques reliés à l'absorption cutanée de points quantiques ne sont pas connus actuellement selon la revue de littérature effectuée par Hardman (2006).

9.2.3. L'exposition par ingestion

Les risques reliés à l'ingestion accidentelle de points quantiques ne sont pas connus actuellement selon la revue de littérature effectuée par Hardman (2006).

9.2.4. L'exposition par d'autres voies

Dans une étude de Larson *et al.* (2003) citée par Hardman (2006), des souris auxquelles on a administré des solutions de 20 nM et 1 µM de points quantiques de CdSe/ZnS par injection intraveineuse n'ont montré aucun signe de maladie.

Une étude de Ballou *et al.* (2004), citée par Hardman (2006), a montré que des souris auxquelles on a administré des points quantiques amphiphiles d'acide polyacrylique enrobés de polymère (amp-QDs) et des amp-QDs conjugués à des groupements PEG-amine (injection intraveineuse de 20 pmol/g de poids corporel) n'ont manifesté aucun signe de nécrose au site de déposition des particules et ce, jusqu'à 133 jours après l'injection.

9.2.4.1. Les effets sur les organes

9.2.4.1.1. Les effets sur la peau et les muqueuses
Aucune donnée

9.2.4.1.2. Les effets sur le système respiratoire
Aucune donnée

9.2.4.1.3. Les effets sur le foie

La libération de cadmium suite à l'altération de la surface de points quantiques par photoactivation et oxydation a provoqué de la cytotoxicité hépatique *in vitro* (US EPA, 2005).

9.2.4.1.4. Les effets sur les reins
Aucune donnée

9.2.4.1.5. Les effets sur le système gastro-intestinal
Aucune donnée

9.2.4.1.6. Les effets sur le coeur et la circulation sanguine
Aucune donnée

9.2.4.1.7. Les effets sur le sang et le système hématopoïétique

Aucune donnée

9.2.4.1.8. Les effets sur le système nerveux

Aucune donnée

9.2.4.2. Les effets immunologiques et allergiques

Aucune donnée

9.2.4.3. Les effets sur la reproduction et le système reproducteur

Aucune donnée

9.2.4.4. Les effets sur le développement

Dans leur étude sur des embryons de la grenouille *Xenopus* exposés à des points quantiques de CdSe/ZnS enrobés de PEG-PE et de PC, Dubertret *et al.* (2002) concluent à l'absence de toxicité significative pour le développement embryonnaire (à une concentration inférieure à 5×10^9 points quantiques par cellule).

9.2.4.5. Les effets génotoxiques

Dans une étude de Hoshino *et al.* (2004b) citée par Hardman (2006), des dommages réversibles à l'ADN ont été observés sur des cellules lymphoblastiques humaines (WTK1) après 2 h d'exposition à des points quantiques conjugués à de l'acide carboxylique à une concentration de 2 μ M.

Dans la même étude citée par Hardman (2006), Hoshino *et al.* (2004b) ont évalué la cytotoxicité de trois enrobages de surface des points quantiques (MUA, cystéamine et thioglycérol) et de deux impuretés (oxyde de tri-*n*-octylphosphine (TOPO) et ZnS) sur des cellules lymphoblastiques humaines (WTK1). L'exposition au MUA a causé de la cytotoxicité (12 h ; > 100 μ g/mL) ainsi que des dommages à l'ADN (2 h ; 50 μ g/mL). Une faible génotoxicité a été observée suite à une exposition de 12 h à la cystéamine et la toxicité du thioglycérol était négligeable. Selon Hardman (2006), les résultats de Hoshino *et al.* (2004b) suggèrent que la génotoxicité a été causée par les enrobages de surface hydrophiles et non par le cœur des points quantiques. Par ailleurs, Chen et Gerion (2004), cités par Hardman (2006), ont attribué l'absence de génotoxicité de points quantiques à un enrobage de silice qui aurait empêché l'interaction du Cd, Se, Zn et du soufre avec les protéines et l'ADN dans le noyau.

9.2.4.6. Les effets cancérogènes

Aucune donnée.

9.2.4.7. Les effets cellulaires et humoraux

Dans une étude de Jaiswal *et al.* (2003), citée par Hardman (2006), des points quantiques de CdSe/ZnS enrobés de DHLA (400-600 nM) n'ont eu aucun effet sur la croissance et le développement de cellules HeLa et de l'amibe *Dictyostelium discoideum*. Les cellules sont demeurées marquées par les points quantiques pendant plus d'une semaine.

Dans une étude *in vitro*, Derfus *et al.* (2004) ont évalué la cytotoxicité des points quantiques de CdSe. La viabilité des hépatocytes incubés dans une solution contenant les points quantiques diminuait en fonction de la concentration ($0,0625 < 0,25 < 1$ mg/mL) et diminuait davantage si les points quantiques avaient été soumis à des rayonnements ultraviolets (UV) pendant des durées de

1, 2 et 4 h. Les points quantiques qui avaient été exposés aux UV pendant 8 h réduisaient la viabilité cellulaire de façon importante et comparable pour les trois concentrations (6 % de cellules viables). L'exposition des points quantiques à l'air 30 minutes avant l'enrobage par du MAA diminuait également la viabilité cellulaire, celle-ci passant de 98 à 21% à une concentration de 0,0625 mg/mL (Hardman, 2006). Les auteurs concluent à une cytotoxicité significative de points quantiques de CdSe, secondaire à une oxydation de leur surface et à la libération d'ions Cd²⁺, reconnus cancérigènes pour l'homme. L'encapsulation des points quantiques avec du ZnS avait tendance à réduire cet effet (66 % de viabilité cellulaire), mais il ne devenait presque nul que si les points quantiques étaient encapsulés avec de l'albumine sérique bovine à 98 %.

Shiohara *et al.* (2004) ont étudié *in vitro* la cytotoxicité de points quantiques de CdSe / ZnS enrobés d'acide mercaptoundécanoïque et d'albumine de sérum de moutons. Ils ont produit trois formes de points quantiques qui différaient selon leur photoluminescence. Des cellules rénales de primates, des hépatocytes humains et des cellules de cancer du col utérin ont été exposés à 0, 0,05, 0,1 et 0,2 mg/mL pendant 24 h. Les auteurs ont noté une diminution dose-dépendante de la viabilité des 3 lignées cellulaires exposées à des concentrations de 0,1 et 0,2 mg/mL.

Une étude de Hoshino *et al.* (2004a), citée par Hardman (2006), a mis en évidence la toxicité des matériaux employés pour enrober les points quantiques. Les auteurs ont observé de la cytotoxicité suite à l'exposition de cellules de lymphome T provenant de souris (EL-4) à de l'acide mercaptoundécanoïque (MUA) (12 h ; 100 µg/mL). Hardman (2006) souligne toutefois qu'il est peu probable que les effets observés dans l'étude de Lovric *et al.* (2005) soient attribuables uniquement à l'acide mercaptopropionique (MPA) et à la cystéamine enrobant les points quantiques.

Dans la même étude de Hoshino *et al.* (2004a) citée par Hardman (2006), la viabilité de cellules EL-4 incubées avec des points quantiques de CdSe/ZnS-SSA a diminué de façon dose-dépendante à une concentration supérieure à 0,1 mg/mL et la majorité des cellules incubées à une concentration de 0,4 mg/mL était non viable au-delà de 6 h. Par ailleurs, aucune toxicité n'a été observée suite à l'administration par injection intraveineuse de cellules EL-4 incubées dans 0,1 mg/mL de points quantiques conjugués à de l'albumine de sérum de mouton à des souris nues (Hardman, 2006).

Une étude de Voura *et al.* (2004), citée par Hardman (2006), n'a montré aucune différence entre la croissance de cellules de mélanome (B16F10) exposées à des points quantiques de CdSe/ZnS enrobés d'acide dihydroxylipoïque (DHILA) à une concentration de 5 µL/mL et la croissance des cellules non exposées.

Aucune cytotoxicité n'a été observée dans une étude de Chen et Gerion (2004), citée par Hardman (2006), sur des cellules HeLa transfectées par des points quantiques de CdSe/ZnS conjugués à un peptide de signalisation nucléaire du virus SV40. Les points quantiques ont eu un impact minimal sur la survie des cellules à une concentration d'environ 100 nM (100 pmol/10⁶ cellules).

Kirchner *et al.* (2005) ont mis en évidence la cytotoxicité de solutions de nanocristaux de CdSe, ainsi que de CdSe / ZnS sur des cellules tumorales et sur des fibroblastes humains. Cet effet était plus important si l'enrobage des

nanocristaux était fait d'acide mercaptopropionique, enrobage instable, alors que des enrobages plus stables (PEG-silice) réduisaient la toxicité aux concentrations utilisées. Des enrobages de phosphosilicate augmentaient l'effet, produisant des ions Cd^{+2} à l'intérieur même de la cellule. Il faut noter que des NP inertes d'or enrobées de polymères avaient aussi un effet cytotoxique comparable à celui des NP de CdSe / ZnS. Les auteurs concluent que l'effet toxique peut être lié à l'effet direct des particules par précipitation sur les cellules et non seulement à la production d'ions Cd^{+2} .

Green et Howman (2005) ont effectué une expérience *in vitro* où ils ont incubé de l'ADN à double brin en torsade dans une solution de sélénure de cadmium encapsulé dans du sulfite de zinc (CdSe/ZnS) fonctionnalisé avec de la biotine en surface. Des rayonnements ultraviolets (UV) ont aussi été utilisés. Les résultats de cette étude démontrent que les points quantiques altéraient l'ADN par la production de radicaux libres de SO_2 résultant de l'oxydation du ZnS. La proportion d'altérations de l'ADN variait en fonction de la présence (56 %) ou de l'absence (29 %) d'UV. Selon les auteurs, ces résultats suggèrent que le mécanisme par lequel les points quantiques endommagent l'ADN n'est pas seulement un processus de génération de radicaux libres lié principalement à la lumière. De plus, les auteurs ont observé des dommages à l'ADN au temps 0, ce qui signifie que l'effet des points quantiques sur l'ADN est immédiat. L'ADN incubé seul dans l'obscurité ou sous la lumière UV n'a montré aucun dommage.

Lovric *et al.* (2005) ont exposé des cellules de phéochromocytome de rat (PC12) à des points quantiques de CdTe cationiques rouges (5,2 nm ; 37,5 $\mu\text{g}/\text{mL}$). Après une heure d'exposition, les auteurs ont observé une modification de la forme des cellules, la condensation de la chromatine et la formation de vésicules sur la membrane nucléaire (indicateurs de toxicité cellulaire). Après 24 h d'exposition, 50 % des cellules avaient une morphologie nucléaire indiquant la condensation de la chromatine. Lovric *et al.* (2005) ont également observé une diminution de l'activité métabolique des cellules après 24 h d'exposition aux points quantiques (10-100 $\mu\text{g}/\text{mL}$). Les points quantiques verts (2,2 et 2,3 nm) étaient significativement plus toxiques que les points quantiques rouges (5,2 et 5,7 nm) à la plus forte concentration testée sur les cellules PC12 (100 $\mu\text{g}/\text{mL}$). Les auteurs concluent que la cytotoxicité des points quantiques de CdTe est reliée en partie à la taille des particules. Des points quantiques rouges et verts ont également provoqué une diminution de l'activité métabolique dans des microglies de souris (lignée N9) après 24 h d'exposition. La présence de sérum dans le médium a protégé les cellules PC12 et N9 des effets des deux types de points quantiques. Aucune diminution de l'activité métabolique des cellules PC12 n'a été observée suite à l'ajout de *N*-acétylcystéine (NAC, un inhibiteur de la toxicité du cadmium) dans le médium 2 h avant l'exposition aux points quantiques cationiques rouges. De l'albumine de sérum de bovin conjuguée ou non à des points quantiques anioniques (verts 2,3 nm et rouges 5,7 nm) a protégé les cellules PC12 contre la cytotoxicité. La protection fournie par le NAC et l'albumine de sérum de bovin suggère que la toxicité est partiellement attribuable à la présence de Cd^{2+} . Par contre, le Trolox (analogue de la vitamine E) n'a eu aucun effet protecteur aux mêmes concentrations, ce qui suggère que le mécanisme de toxicité des points quantiques n'est pas seulement lié à la formation de radicaux libres (Lovric *et al.*, 2005).

Les points quantiques de CdTe ont tendance à former des agrégats dans les liquides biologiques et peuvent possiblement former des complexes avec des protéines cellulaires (Lovric *et al.*, 2005).

Une étude de Hanaki *et al.* (2003) citée par Hardman (2006) n’a montré aucun effet des points quantiques de CdSe/ZnS recouverts de MUA et conjugués à du SSA sur la viabilité de cellules Vero exposées à une concentration de 0,24 mg/mL (exposition de 2 h suivie d’un lavage des cellules et d’une nouvelle incubation). Les points quantiques ont été observés dans les endosomes et lysosomes près de la région périnucléaire des cellules 5 jours après l’exposition. Les auteurs soulignent toutefois qu’ils ignorent si les points quantiques affectent la viabilité cellulaire lorsqu’ils se retrouvent distribués dans le cytosol des cellules (Hardman, 2006).

Le tableau 6 fait ressortir les informations très limitées actuellement disponibles sur la toxicité des points quantiques.

Tableau 6. Effets sur la santé documentés de points quantiques¹

Effet	Points quantiques ²			
	Voie			
	Inhalation ³	Cutannée	Orale	Autres
Toxicocinétique		▲		▲
Irritation				
Systémique ⁴				
	Aigu			
	Intermédiaire			
Chronique				
Neurologique				
Immunologique				
Développement				▲
Reproduction				
Génotoxique				▲
Cancer				

¹ Études existantes chez l’humain (■) ou l’animal (▲). Adapté de l’ATSDR.

² Points quantiques testés : CdSe/ZnS, CdTe, acide polyacrylique.

³ Incluant l’instillation intratrachéale.

⁴ Effet systémique : aigu (≤ 14 jours), intermédiaire (15 à 364 jours) et chronique (≥ 365 jours).

10. LES EFFETS DES AUTRES NANOMATÉRIAUX SUR LA SANTÉ

La diversité des NP pouvant être synthétisées varie presque à l'infini. Nous avons donc couvert les substances pour lesquelles le plus grand nombre de travailleurs pourront potentiellement être exposés. Il va sans dire qu'avec l'augmentation rapide des nouvelles publications et revues spécialisées en nanotoxicologie, une revue exhaustive de l'ensemble des substances de dimensions nanométriques dépasserait largement les objectifs de la présente étude.

11. DISCUSSION

Plusieurs études ont été réalisées chez différentes espèces animales et chez l'homme afin de déterminer si des particules de dimensions nanométriques, les poussières ultrafines, ont des effets néfastes sur la santé. Dans la majorité des études existantes, les poussières ultrafines documentées sont des produits de réaction, secondaires et indésirables, tels les fumées de soudage, les émissions de moteurs diesels, etc. Or les NP sont, au contraire, de nouvelles particules fabriquées essentiellement pour leurs propriétés uniques basées sur leur petite taille, leur grande surface spécifique et leurs effets quantiques et qui permettent d'envisager de nombreuses applications industrielles et commerciales.

Nous avons résumé en introduction les connaissances actuelles sur la toxicité des particules ultrafines dont les propriétés granulométriques sont semblables aux NP. Il en ressort clairement qu'elles démontrent des effets toxiques de natures diverses et sur de nombreux organes, même lorsque absorbées presque uniquement par voie pulmonaire. Ces effets ont été mesurés chez l'animal et attestés par différentes études cliniques et épidémiologiques chez l'homme.

La présente revue de littérature, dont la première édition avait été publiée en 2006 (Ostiguy *et al.*, 2006a), s'intéresse aux NP volontairement synthétisées pour être commercialisées à grande échelle tels les fullerènes, les nanotubes de carbone mono et multiparois, les NP organiques et inorganiques, les points quantiques et les dendrimères.

Les NP solubles se dissolvent et leurs effets toxiques sont reliés à leurs différentes composantes, indépendamment de la taille initiale de la particule. Ces effets sont bien connus en fonction de la composition chimique et ne sont pas décrits dans la présente revue. Par contre, la situation est tout à fait différente pour les NP insolubles ou très peu solubles (Oberdörster, 2005a, 2005b). Les données actuellement disponibles sur la toxicité des NP insolubles sont fragmentaires et ne permettent pas toujours une évaluation quantitative du risque (Kuempel, 2006) ou une extrapolation à l'homme pour les NP de synthèse, sauf peut-être, pour le TiO₂ (NIOSH, 2005). Il est aisé de constater, à la lecture de ce rapport, le nombre important de situations pour lesquelles il n'y a présentement aucune information disponible. Nous devons en outre rappeler que les informations sont présentées par classes de produits, chacun de ceux-ci pouvant démontrer des propriétés uniques. Dans le cas des fullerènes, par exemple, ces NP peuvent contenir de 28 à plus de 100 atomes de carbone. Or des informations n'existent pratiquement que pour la forme contenant 60 atomes de carbone et avec une pureté qui, la plupart de temps, n'est pas documentée.

Néanmoins, les informations actuellement disponibles font ressortir plusieurs données qui, bien que préliminaires, permettent déjà de conclure que les NP doivent être manipulées avec précaution. L'exposition du travailleur doit être réduite au minimum car plusieurs effets toxiques ont été documentés bien qu'ils soient extrêmement variables d'un produit à un autre. Dans ce sens, l'IR SST publiera, en 2008, un guide de bonnes pratiques suggérant différentes approches permettant de travailler de façon sécuritaire avec des NP.

Absorption des nanoparticules manufacturées

La première particularité des NP réside dans leur mode de déposition pulmonaire où les particules, même très petites, sont déposées tout au long de l'arbre pulmonaire et non uniquement au niveau alvéolaire. Oberdörster (2005a, 2005b) fait nettement ressortir que la clairance mucociliaire et la phagocytose sont des mécanismes de clairance pulmonaire bien documentés

pour les particules ultrafines ou micrométriques. De par leur petite taille extrême, les particules nanométriques peuvent franchir les organes extra-pulmonaires. Ceci implique une migration de certaines particules solides, la translocation, à travers les couches épithéliales pulmonaires jusqu'aux systèmes sanguin et lymphatique de même qu'à travers les terminaisons nerveuses des nerfs olfactifs, le long des axones neuronaux jusqu'au système nerveux central. Nemmar *et al.* (2002a) émettent trois hypothèses majeures à propos de la translocation des particules ultrafines à la barrière sang-air dans les alvéoles : le transport se fait à travers des processus actifs, tels la phagocytose et l'endocytose des macrophages alvéolaires et des cellules endothéliales respectivement ; le transport est passif par diffusion ; le transport est passif ou actif au travers de pores dans le cytoplasme des cellules endothéliales ou des interstices entre les cellules épithéliales alvéolaires.

Une autre voie d'exposition potentiellement importante pour les travailleurs est l'exposition cutanée. En fait, l'absorption cutanée pourrait être une voie d'exposition plus importante que l'inhalation pour les travailleurs manipulant des nanomatériaux préparés et utilisés sous forme de colloïdes (Colvin, 2003). Les NP liposolubles sont possiblement en état de se déplacer dans l'espace intercellulaire de la couche cornée et de traverser les cellules, les follicules pileux ou les canaux sudoripares (Monteiro-Riviere et Inman, 2006). La zone non vascularisée de la peau peut également servir de réservoir pour les NP, d'où elles ne pourraient être éliminées par les macrophages (Monteiro-Riviere et Inman, 2006). Les NP absorbées au niveau dermatologique pourraient se retrouver dans la circulation systémique après avoir franchi toutes les couches de la peau (Monteiro-Riviere et Inman, 2006). L'absorption peut être facilitée si la couche cornée de la peau est endommagée. De plus, les conditions d'exposition en milieu de travail (par exemple le taux d'humidité) sont susceptibles d'influencer l'absorption cutanée. Dans le cas de NP faiblement absorbées par la peau, une allergie et/ou une dermatite de contact pourraient être observées (Monteiro-Riviere et Inman, 2006). Warheit *et al.* (2007c), concluent que, dans la grande majorité des situations, l'absorption pulmonaire potentielle en milieu de travail serait plus importante que l'absorption cutanée.

De bonnes pratiques d'hygiène personnelle en milieu de travail devraient fortement limiter l'ingestion de NP. Celles-ci peuvent néanmoins se retrouver dans le tractus gastro-intestinal suite à la déglutition dans le système digestif de NP provenant du système respiratoire via l'ascenseur mucociliaire. De plus, des NP sont maintenant utilisées comme additifs dans l'industrie alimentaire, les médicaments et certains produits associés (Zhao *et al.*, 2007b). Lorsqu'elles seront largement utilisées dans différents produits industriels, agricoles ou autres, une certaine quantité se retrouvera dans l'environnement, à la suite notamment de rejets industriels, soit par l'eau usée ou par la disposition de nanomatériaux ou de produits contenant des NP. Dans l'environnement, ils pourront être modifiés chimiquement, être absorbés par différents bioorganismes et éventuellement entrer dans la chaîne alimentaire.

Les études scientifiques parcourues pour la réalisation de ce bilan de connaissances suggèrent un comportement intestinal très différent pour les particules nanométriques comparativement aux microparticules. Certaines expériences chez le rat ou la souris ont démontré des effets spécifiques uniques aux NP suite à une ingestion : symptômes sévères de léthargie, anorexie, vomissement, diarrhée, importante perte de poids corporel et décès de certains animaux par obstruction de l'intestin (Wang *et al.*, 2006). La translocation de l'intestin vers le sang et la lymphe est possible pour certaines NP et est fonction de la taille, de la charge de surface, de l'hydrophilicité/hydrophobicité, du recouvrement biologique, de liaisons à différents ligands, de recouvrement chimique avec des surfactants, etc. (Zhao *et al.*, 2007a). Par exemple, la translocation serait plus importante pour les particules hydrophobes de même que pour les particules de petite taille.

Ainsi, des NP insolubles peuvent se retrouver dans le sang en ayant franchi les mécanismes de protection respiratoire, cutanée ou gastro-intestinale et se distribuer vers les différents organes, partout dans l'organisme, incluant le cerveau et être stockées à l'intérieur même des cellules. D'ailleurs, Oberdorster *et al.* (2007), font clairement ressortir le consensus scientifique sur la propension des NP à traverser les barrières cellulaires. Une fois pénétrées dans les cellules, les NP interagissent avec les structures sous-cellulaires, conduisant à l'induction de stress oxydatif comme principal mécanisme d'action des NP. Ces propriétés sont actuellement très étudiées en pharmacologie car elles pourraient permettre d'utiliser des NP comme vecteurs d'acheminement des médicaments à des sites ciblés de l'organisme. Aux États-Unis, la Food and Drug Administration a d'ailleurs déjà approuvé (<http://www.fda.gov/nanotechnology>) l'utilisation thérapeutique de certaines NP. En contrepartie, dans certaines entreprises, des travailleurs seront exposés par inhalation ou par contact cutané et des NP pourraient se retrouver distribuées dans leur organisme suite à leur absorption. Or, plusieurs de ces NP ont démontré des effets toxiques importants lors d'études sur les animaux de laboratoire.

Principaux paramètres influençant la toxicité des nanoparticules

La toxicité des particules de taille microscopique est normalement bien corrélée avec la masse de la substance toxique. Les premières études sur les NP ont clairement démontré que la toxicité, pour une substance spécifique, variait substantiellement en fonction de la taille pour une même masse de NP et qu'elle était corrélée à la surface de ces particules plutôt qu'à leur masse (Oberdorster 2005b ; Monteiller *et al.* (2007). Moss (2006) a mis en évidence que le nombre de particules est tout aussi important que la surface de celles-ci lors de l'évaluation de la toxicité. En effet, une corrélation a déjà été démontrée entre les changements fonctionnels des macrophages indiqués par la diminution de leur habilité à éliminer les NP et la surface de ces particules. Or Moss (2006) soutient que ces effets ne seraient pas liés uniquement à la surface des NP mais également au nombre de particules puisque les NP déposées sur les macrophages masquent leur surface. L'auteur conclut que le nombre tout autant que la surface doivent être considérés pour prédire le potentiel d'obstruction des mécanismes moléculaires. Les macrophages sont considérés surchargés lorsque le volume occupé par les corps étrangers est supérieur à 6 %. Moss (2006) a étudié le pourcentage de recouvrement des macrophages par les NP. Il conclut que les réponses cellulaires reliées à la surface des NP peuvent être dues non seulement aux effets de chimie de surface mais également à l'obstruction des procédés cellulaires par la présence des particules ou une combinaison des deux. Si la quantité de particules présentes est capable de recouvrir la cellule à plus de deux reprises, on est en présence de surcharge et d'un phénomène physique d'obstruction biologiquement significatif. Ces deux paramètres (surface spécifique et nombre de particules) peuvent être extraordinairement élevés pour certaines NP et donc influencer directement leur toxicité. En outre, une grande proportion des atomes des NP se trouvent à leur surface, ce qui leur confère une grande réactivité (Borm *et al.*, 2006a ; Fiorito *et al.*, 2006a, b ; Powell et Kanarck, 2006). Il ne faut pas oublier en revanche que la majorité des études portent sur le rat, une espèce particulièrement sensible au développement de réactions pulmonaires à des particules de faible solubilité (Warheit 2006).

La toxicité des NP peut également être modifiée par les propriétés de surface comme la charge et la réactivité (Hoet *et al.*, 2004a ; US EPA, 2005 ; Haasch *et al.*, 2005). La charge des particules influence notamment l'absorption et la distribution des NP dans l'organisme (US EPA, 2005). Par exemple, l'étude de Lockman *et al.* (2004) a mis en évidence une perméabilité supérieure de la barrière hémato-encéphalique pour les NP anioniques. Ainsi, la plus grande activité photocatalytique du nanoTiO₂ anatase n'est pas le résultat de leur plus grande aire de surface, mais réside plutôt dans les caractéristiques de leur surface. Sayes *et al.* (2006b) émettent

l'hypothèse que c'est l'habileté qu'ont les nanoTiO₂ à produire des radicaux libres, qui est le paramètre critique régissant à la fois la photoréactivité, la toxicité et l'inflammation cellulaire. La susceptibilité individuelle, l'interaction des particules avec les composantes biologiques et l'évolution des particules une fois entrées dans l'organisme sont d'autres facteurs dont il faut tenir compte (AFSSET, 2006). Dobrovolskaia et McNeil (2007) font bien ressortir que toute modification de surface pourra avoir un effet sur la toxicité et que la compatibilité d'une NP avec le système immunitaire est largement dépendante de la chimie de surface.

Wallace *et al.* (2007) font ressortir le fait que les NP entrant dans les poumons vont interagir avec les fluides pulmonaires, notamment en adsorbant les surfactants présents dans les poumons à la surface des particules et, conséquemment, conditionner les surfaces des particules et affecter leur expression de génotoxicité ou de cytotoxicité *in vitro*. Ces effets peuvent être spécifiques à la composition de la surface de la NP.

Warheit et son équipe (2005, 2006) ont réalisé deux études d'inflammation pulmonaire chez le rat avec des particules fines et nanométriques de quartz. Une première étude (2005) a établi que les particules nanométriques (50 nm) produisaient une réponse inflammatoire pulmonaire moins intense et soutenue que les particules micrométriques (1600 nm). La seconde étude a conduit à une conclusion inverse. Les auteurs concluent que de nombreux facteurs peuvent influencer la toxicité de ces particules : le nombre de particules, la taille, l'aire et la concentration, la dose de surface, le recouvrement de surface des particules, le degré d'agglomération des particules et le site de déposition pulmonaire, l'âge des particules qui peut avoir un impact sur les propriétés de surface, la charge de surface des particules, leur forme, le potentiel d'attraction électrostatique et leur capacité à agglomérer, la méthode de synthèse des particules et les modifications post-synthèse. Les études sur les nanotubes ont également démontré que la présence de métaux peut également favoriser la formation de radicaux libres et l'inflammation pulmonaire. D'ailleurs, plusieurs études ont conduit à la mortalité de rats causée par une surcharge et un blocage mécanique des poumons et non par la toxicité spécifique du produit testé. D'autres chercheurs, dont Borm *et al.* (2006b) soulignent que la composition chimique et le relargage de composantes de la surface, les propriétés colloïdales et de surface des NP, la compartimentation dans les voies pulmonaires et la biopersistance sont aussi des facteurs qui contribuent à rendre plus complexe la toxicité des NP. La lente dissolution de certaines NP ou de certaines de leurs composantes dans l'organisme peut devenir un élément majeur dans leur toxicité. La porosité et la structure cristalline devraient également être considérées (Oberdorster *et al.*, 2005c). Warheit *et al.* (2007c) ont présenté les conclusions d'un atelier d'experts, organisé par ECETOC en 2005, déduisant que pour l'instant, il est ni possible ni désirable de tenter de caractériser les expositions ou la toxicité à partir d'un seul paramètre, tels la surface spécifique, le nombre de particules ou tout autre paramètre. En revanche, Wittmaack (2007), exploitant les résultats déjà publiés dans la littérature relativement à la réponse inflammatoire des poumons de rats et de souris soumis à différentes NP, conclut que plusieurs paramètres donnent une relation dose-réponse linéaire avec la toxicité mesurée : le nombre de particules, le produit du nombre de particules par la taille moyenne et la surface spécifique réelle. La surface spécifique estimée à partir de la taille des particules n'a pas donné, par contre, une très bonne corrélation.

Au-delà de tous ces paramètres pouvant influencer la toxicité des NP, Sayes *et al.* (2007a, 2007b) concluent qu'une comparaison de résultats publiés entre les essais *in vivo* et *in vitro* démontre souvent peu de corrélation, particulièrement lorsqu'on considère différentes variables. Ces auteurs concluent que les systèmes cellulaires *in vitro* devront être améliorés, standardisés et validés en lien avec les effets *in vivo* si on souhaite qu'ils soient utiles comme outils de dépistage de la toxicité relative aux différents types de particules inhalées.

Il semble maintenant faire consensus dans la communauté scientifique que les prochaines études de toxicité des NP devront être faites avec des produits extrêmement bien caractérisés (Hurt *et al.*, 2006 ; Department for Environment, Food and Rural Affairs, 2006). À titre d'exemple, les NTC contiennent un mélange de NTC, des produits du carbone non fibreux, des métaux, des longueurs et des degrés d'agglomération différents, etc... Le mode de purification et de mise en suspension pour réaliser des études toxicologiques peut également conduire à des modifications majeures des propriétés de surface de ces produits, de même qu'à leur interaction avec les fluides et les tissus biologiques. Les métaux utilisés lors de la synthèse de nanotubes de carbone pourraient ainsi contribuer à la toxicité de ces produits et ce, de façon variable en fonction de leur degré de solubilité et de leur disponibilité biologique.

Le tableau 7 résume les paramètres le plus régulièrement identifiés dans la littérature comme pouvant contribuer à la toxicité des NP. La caractérisation adéquate des NP permettrait, ultérieurement, lorsque les mécanismes de toxicité auront été élucidés, de disposer de l'ensemble des informations requises pour interpréter des résultats. Le seul paramètre qui fasse actuellement consensus est que la masse ne permet pas de corrélérer la dose de NP aux effets mesurés. Or, la masse devrait elle aussi être documentée car elle est souvent le seul paramètre connu ou rapporté lors d'études antérieures.

Tableau 7 : Principaux paramètres permettant une caractérisation adéquate des nanoparticules pour des études toxicologiques

Paramètres
<ul style="list-style-type: none"> ▪ Masse, concentration ▪ Composition chimique (puretés et impuretés) ▪ Solubilité ▪ Surface spécifique ▪ Nombre de particules ▪ Taille et distribution granulométrique ▪ Propriétés de surface (charge/potentiel zeta, réactivité, composition chimique, groupements fonctionnels, potentiel Redox, potentiel à générer des radicaux libres, présence de métaux, recouvrement de surface, etc.) ▪ Forme, porosité ▪ Degré d'agglomération/aggrégation ▪ Biopersistance ▪ Structure cristalline ▪ Hydrophilicité/hydrophobicité ▪ Site de déposition pulmonaire ▪ Âge des particules ▪ Producteur, procédé et source du matériel utilisé

Portée et limites du bilan de connaissances

Les publications relatives à la toxicité des NP se multiplient rapidement et notre revue de littérature ne s'est intéressée qu'aux NP synthétisées dans le but d'une utilisation commerciale et pour lesquelles les bilans demeurent fragmentaires. C'est pourquoi, plusieurs polluants naturels et

industriels, telles les fumées de soudage, les émissions de moteurs diesels ou encore les fumées de hauts fourneaux n'ont pas été considérés, ou peu utilisés, et que les informations disponibles sur le noir de carbone (IARC, 1996, 2006a; Frampton *et al.*, 2004) ou le bioxyde de titane (NIOSH, 2005 ; IARC, 2006b) n'ont été qu'effleurées, ces produits ayant déjà fait l'objet de revues détaillées.

En fait, les carences des données toxicologiques actuelles s'expliquent par la faible quantité d'informations disponibles, la complexité des interactions NP-organisme et la difficulté de pouvoir conclure de façon définitive sur la toxicité d'une NP spécifique. Les deux principaux facteurs limitatifs nous semblent liés au nombre restreint d'études portant sur les mêmes produits en utilisant des méthodologies et des voies d'absorption représentatives de l'exposition professionnelle et aux caractérisations souvent incomplètes des NP ne permettant pas d'assurer que les NP utilisées soient identiques. La disponibilité prochaine de produits de référence internationaux permettra au moins l'utilisation de produits identiques dans différents laboratoires et contribuera donc à mieux cerner les variables influençant la toxicité.

Avec le niveau élevé d'incertitudes relatives à la toxicité de la majorité des NP disponibles de même qu'avec le manque quasi total d'informations sur les expositions professionnelles, il est difficile de faire une évaluation quantitative du risque spécifique pour chaque NP. Il est essentiel, dans un tel contexte, d'avoir une approche préventive, voire de précaution, et de considérer les NP comme très toxiques. Afin de faciliter le développement et l'implantation de moyens de contrôle de l'exposition dans un contexte d'incertitudes relatives aux risques, nous publierons, dès 2008, un guide de bonnes pratiques favorisant le travail sécuritaire avec les NP (Ostiguy *et al.*, 2008b) de même qu'une revue de différents éléments pouvant être tenus en compte pour l'évaluation des risques et dans la sélection des mesures de prévention (Ostiguy *et al.*, 2008a).

Les fullerènes

Plusieurs études de toxicité ont été réalisées pour les fullerènes. Quoiqu'aucun effet cancérigène n'ait été observé suite à l'application cutanée chez la souris, plusieurs effets toxiques ont été rapportés après l'ingestion et l'injection chez le rat. L'injection intra-péritonéale a perturbé la reproduction chez la souris (mortalité, malformation, etc.). Les informations existantes concernant les effets sur la santé des fullerènes demeurent néanmoins très limitées comme le fait ressortir le tableau 1. Des résultats contradictoires ont été obtenus lors de tests de génotoxicité. Il en est de même pour les études de Sayes *et al.* (2005, 2007a) qui concluent à une beaucoup plus forte toxicité du C₆₀ que du C₆₀(OH)₂₄ sur des cellules épithéliales pulmonaires *in vitro* tout en constatant une absence de toxicité de ces deux produits *in vivo*. L'exposition potentielle des travailleurs étant principalement de nature respiratoire, le tableau 1 fait clairement ressortir l'absence d'informations se rapportant à l'absorption par inhalation de même que l'absence totale de données chez l'homme. La cytotoxicité induite par les fullerènes C₆₀ serait principalement due aux modifications de surface des molécules par irradiation, dérivation ou fonctionnalisation (Fiorito *et al.*, 2006a, b). Il semble probable que seuls les fullerènes modifiés soient cytotoxiques (Andrievsky *et al.*, 2005 ; Fiorito *et al.*, 2006a, b).

Les nanotubes de carbone (CNT)

Les nanotubes de carbone peuvent être monoparois (SWCNT) ou multiparois (MWCNT) et être de pureté très variable. Aucune irritation cutanée chez l'humain et le lapin et aucune au niveau des yeux chez le lapin n'a été observée par Huczko et Lange (2001a) pour des SWCNT.

Cependant, Shvedova *et al.* (2003) soulignent, entre autres, la possibilité de cancer et de troubles dermatologiques associés à un excès de fer (l'altération de la pigmentation, l'inflammation, la porphyrie, etc.).

L'étude exploratoire de Huczko *et al.* (2001b) n'a pas permis de montrer d'atteinte de la fonction pulmonaire ni d'anomalie dans le liquide de lavage broncho-alvéolaire chez le cochon d'Inde exposé aux SWCNT. Shevedova *et al.* (2003) concluent que l'exposition aux SWCNT non raffinés peut conduire à une augmentation de la toxicité pulmonaire des travailleurs à cause du stress oxydatif qui serait relié au fer associé aux SWCNT. Deux études ont montré que les types de SWCNT testés ont été capables de causer des granulomes chez le rat et la souris à la suite d'une exposition aiguë (Warheit *et al.*, 2004; Lam *et al.*, 2004a).

Dans le contexte québécois, deux hypothèses ont été soulevées en ce qui concerne les risques pour la santé de l'exposition aux NTC. Elles sont actuellement exclusivement spéculatives et nécessiteront d'être démontrées:

- 1) la formation des granulomes pulmonaires et la similarité avec les effets de certains agents, notamment le béryllium;
- 2) le cancer à cause de la similarité avec l'amiante.

La formation de granulomes pulmonaires a été démontrée chez le rat et la souris après une seule exposition par instillation intratrachéale. Leur formation a été observée lors de l'exposition à plusieurs agents d'origine professionnelle, notamment les métaux, ainsi que pour certaines maladies (tuberculose, sarcoïdose, etc.). Parmi les métaux, le béryllium retient particulièrement l'attention à cause de l'importance récente de la béryllose au Québec. La béryllose est une maladie qui se présente sous la forme d'une granulomatose systémique avec une atteinte pulmonaire prédominante, bien que plusieurs autres organes puissent aussi être atteints, et pour laquelle on invoque un mécanisme immuno-allergique (Service du répertoire toxicologique, 2005). Toutefois, l'inflammation et la composante immunologique impliquées dans la béryllose sont insuffisamment étayées en ce qui concerne les nanotubes de carbone pour permettre une extrapolation adéquate de l'un à l'autre. L'hypothèse reste à confirmer.

Selon plusieurs auteurs (Royal Society, 2004; Hoet *et al.*, 2004a, b; Harris, 1999; Donaldson *et al.*, 2006), certains nanotubes de carbone (NTC) sont similaires aux fibres d'amiante. Contrairement aux NP, leur toxicité augmente avec leur agglomération (Swiss Engineering, 2006). Ces agglomérats ressemblent aux fibres d'amiante autant par leur aspect que par leur toxicité (Swiss Engineering, 2006). Du point de vue toxicologique, les NTC sont des fibres et leur toxicité sera corrélée à leur persistance dans les poumons (Lam *et al.*, 2006). Muller *et al.* (2006) soulignent toutefois que l'on s'attend à ce que l'exposition aux NTC par inhalation en milieu industriel soit très faible étant donné leur propension à former des agglomérats dont le diamètre aérodynamique se situe au-dessus du seuil de respirabilité ($> 5 \mu\text{m}$). Cela ne veut toutefois pas dire que le risque de toxicité respiratoire soit négligeable, notamment dans le cas où les nanotubes subiraient une quelconque transformation (Muller *et al.*, 2006). Plusieurs types de NTC contiennent du fer, par exemple 26,9 % dans les NTC bruts et 2,14 % dans les NTC raffinés (Lam *et al.*, 2004a). On retrouve également du fer dans des fibres d'amiante du type amphibole qui en contiennent environ 30 % de leur poids. Shvedova *et al.* (2003) mentionnent que plusieurs chercheurs ont observé qu'une quantité excessive de fer accélérât la croissance des cellules néoplasiques et que, chez l'humain et l'animal, les néoplasmes primaires se développent aux sites ayant des dépôts riches en fer. Ils soulignent également que l'exposition importante aux matériaux ferreux en milieu de travail a été associée à l'augmentation du risque de cancer du poumon chez les travailleurs. Harris (1999) fait remarquer que la chrysotile et les NTC ont une

structure tubulaire différente. L'hypothèse du cancer basée sur la similarité de structure avec l'amiante semble plausible mais elle est encore à confirmer. Cette comparaison rappelle la problématique de l'amiante au Québec avec une augmentation de l'incidence des cas de mésothéliome de la plèvre de 1982 à 1996 (De Guire *et al.*, 2003). En 2004, l'amiante demeure la substance ayant causé le plus de décès par maladie professionnelle au Québec (CSST, 2005).

Dans leur revue des données disponibles sur la toxicité des nanostructures de carbone, Panessa-Warren *et al.* (2006) font clairement ressortir que les protocoles expérimentaux utilisés ont quelquefois une signification physiologique limitée à cause d'une surcharge pulmonaire ou d'une obstruction de même qu'à cause du stress relié à l'instillation chez l'animal. Il demeure néanmoins, que les NTC semblent plus toxiques au niveau pulmonaire que le noir de carbone ou que le quartz ultrafin. Il a également été observé que des NTC non biodégradables passent rapidement à travers les parois des alvéoles pour se loger dans les tissus vivants (Hoet *et al.* 2004b; Oberdörster 2002). Le tableau 2 résume les principales informations relatives aux effets toxiques évalués pour les nanotubes de carbone.

Les nanoparticules inorganiques

Au niveau cutané, les études faites sur le TiO₂ dans diverses formulations de filtres solaires ne démontraient pas d'absorption au-delà du derme (sur de la peau saine) chez des sujets humains. Nous n'avons trouvé aucune autre étude sur l'exposition cutanée des NP, transposable au milieu de travail. Étudiant des NP d'argent de forme cristalline en application thérapeutique, Lam *et al.* (2004b) et Poon et Burd (2004) soulèvent cependant la possibilité de cytotoxicité sur de la peau lésée ou sur des fibroblastes ou kératinocytes humains en croissance.

Shimada *et al.* (2007), dans une étude sur la translocation du noir de carbone de 14 nm par instillation trachéale, ont établi l'accumulation de NP dans les espaces entre les cellules épithéliales alvéolaires avec passage dans le sang, résultant possiblement du rétrécissement du cytoplasme suite à des stimulus générés par la liaison des NP aux cellules épithéliales alvéolaires, suivie d'une pénétration occasionnelle de NP dans la membrane alvéolaire.

Dans une étude par inhalation chez le rat visant à étudier le rôle de la taille des particules trouvées dans l'air pollué, Cassee *et al.* (2002) ont observé que les signes de toxicité pulmonaire et d'absorption pulmonaire de particules solubles de CdCl₂ étaient plus importants pour les NP que pour les particules fines ou grossières. L'étude comparative d'autres particules fines et ultrafines semble aussi indiquer que les effets d'une même substance sur les poumons comme l'inflammation, la fibrose et le cancer, sont plus importants à mesure que les dimensions particulières diminuent. Certains auteurs postulent que les NP pourraient échapper à la surveillance des macrophages alvéolaires et migrer vers le compartiment interstitiel, zone la plus vulnérable du système respiratoire (Oberdörster *et al.*, 1994 ; Warheit, 2004). Hohn *et al.* (2002) avaient aussi observé une augmentation de la réaction inflammatoire pulmonaire chez le rat, après inhalation de la forme nanoparticulaire du TiO₂ en comparaison avec la forme microparticulaire.

Au niveau pulmonaire, la translocation rapide de plusieurs types de NP vers la circulation sanguine a été observée dans plusieurs expériences chez l'animal (Kreyling *et al.*, 2002; Oberdörster *et al.*, 1994, 2002, 2005a, 2005b). Ce phénomène peut mener à la redistribution des NP dans les organes comme le foie. Tentant d'expliquer un lien entre la pollution atmosphérique et l'incidence de maladies cardiovasculaires, Nemmar *et al.* (2002a) avaient observé la translocation rapide vers le sang de particules de 5 à 10 nm de carbone radioactif inhalées par 5 sujets humains. Toutefois, une étude récente de Mills *et al.* (2006) met en doute les conclusions de Nemmar *et al.* (2002a). Ces auteurs ont étudié la translocation de NP radioactives de 4 à 20 nm chez 10 volontaires sains suite à l'inhalation du même gaz utilisé par Nemmar *et al.* (2002a), le

Technegas. Leurs résultats suggèrent que des espèces solubles de Technétium-99 sont responsables de l'augmentation de la radioactivité dans le sang. Ils concluent que les résultats rapportés par Nemmar *et al.* (2002a) évoquent un haut degré de contamination par le Pertechegas, un sous-produit de l'oxydation du Technegas.

Dans une étude récente, Nemmar *et al.* (2005) n'ont pas observé la translocation de particules de polystyrène modifiées (24, 110 et 190 nm) de l'espace alvéolaire au compartiment vasculaire. L'étude a cependant été effectuée sur des poumons de lapins isolés et perfusés et la pertinence de ces résultats pour une exposition *in vivo* reste à être établie (Nemmar *et al.*, 2005).

Des mécanismes alternatifs de translocation ont aussi été mis en évidence. Certaines NP inhalées ont traversé la barrière hémato-encéphalique pour être identifiées dans les zones cérébrales. Ce phénomène pourrait aussi être secondaire à la migration des NP le long des voies axonales, à partir des bulbes olfactifs. Selon Gatti et Rivasi (2002), des particules ingérées de moins de 20 µm (20 000 nm) peuvent traverser la barrière intestinale et se retrouver dans la circulation sanguine. De la persorption intestinale a été mise en évidence pour des NP d'or colloïdal (Hillyer et Albrecht, 2001).

Une étude de cas (Gatti, 2004) a mis en évidence que certaines NP et microparticules ont été retrouvées dans les parois intestinales et semblaient associées à des maladies inflammatoires de l'intestin et au cancer de l'intestin.

Bien qu'on reconnaisse que la toxicité des NP est souvent liée à leur petite taille, cet élément ne se vérifie pas toujours. Peters *et al.* (2004) démontrent dans leur étude *in vitro* que le Ni, un agent sensibilisant reconnu, ne provoquait pas de réaction cellulaire proinflammatoire lorsqu'il est administré sous forme nanoparticulaire. Le TiO₂ nanoparticulaire quant à lui, induit un tel effet, contrairement à sa forme microparticulaire. Plusieurs études sur le développement d'applications biopharmacologiques mettent en évidence une diminution de la toxicité générale ou de la cytotoxicité d'or colloïdal (Hainfeld *et al.*, 2004 ; Paciotti *et al.*, 2004), de sélénium (Zhang *et al.*, 2005a) ou de trioxyde d'arsenic (Zhou *et al.*, 2005) en formulations nanoparticulaires, en comparaison avec les formes non nanoparticulaires.

Au niveau des effets cellulaires, certaines études rapportent de la cytotoxicité des NP (Peters *et al.*, 2004 ; Germain *et al.*, 2003) ou le passage à travers les différentes membranes cellulaires (Tkachenko *et al.*, 2004). Le tableau 3 résume les effets sur la santé documentés de certaines NP inorganiques.

Les nanoparticules organiques

Ce sont généralement des matériaux dans lesquels une substance biologique active est piégée, encapsulée ou adsorbée à la surface (Zimmer, 1999). Leur principal intérêt réside dans leur utilisation pour le transport et le ciblage optimal des médicaments.

Des essais ont été effectués avec divers types de NP : des NP polymériques (Kante *et al.*, 1982; Couvreur *et al.*, 1982; Gibaud *et al.*, 1996; Sakuma *et al.*, 2002), des NP colloïdales et des NP sphériques de nature lipidique (Fukui *et al.*, 2003). Les résultats sont prometteurs quant à l'aspect thérapeutique, principalement pour les NP de nature organique, mais les données sont insuffisantes en ce qui concerne leur toxicité en milieu de travail. Le tableau 4 résume les effets sur la santé documentés des NP organiques ayant été retenues pour l'étude.

Les nanocapsules, nanosphères, nanocoquilles, points quantiques et dendrimères

Les nanocapsules, nanosphères et nanocoquilles sont principalement utilisées comme vecteurs pharmacologiques en biopharmacologie. Les points quantiques sont surtout utilisés dans l'imagerie médicale. Les dendrimères peuvent servir à la fabrication des nanotubes et des nanocapsules et être utilisés comme agents de diagnostic et thérapeutique.

Les études publiées sur ces nanomatériaux portent sur le développement des produits possédant une faible toxicité ou des propriétés très spécifiques (cibler un organe ou des cellules tumorales, contourner la voie digestive haute, traverser ou non la barrière hémato-encéphalique,...). Ce sujet dépasse le cadre de ce document. Il y avait peu d'études de toxicité pertinentes à l'exposition des travailleurs en milieu de travail.

Il ressort des études que l'enrobage de ces nanomatériaux peut en modifier la charge, l'affinité pour l'huile ou l'eau ou la stabilité physiologique. Les résultats des études comparatives sur diverses formes d'enrobage sont très variés et dépendent de l'application biomédicale qui est développée.

La toxicité de certains points quantiques pourrait être liée à la libération d'ions cytotoxiques, à des mécanismes oxydatifs (Kirchner *et al.*, 2005) et à d'autres phénomènes moins bien élucidés (Shiohara *et al.*, 2004). Selon Hardman (2006), plusieurs études suggèrent que la cytotoxicité des points quantiques soit causée par la photolyse ou l'oxydation. L'étude de Derfus *et al.* (2004) a d'ailleurs montré une plus grande diminution de la viabilité des hépatocytes de rats exposés à des points quantiques lorsque ces derniers avaient été soumis à des rayonnements UV ou à l'air. Dans sa revue sur la toxicité des points quantiques, Hardman (2006) souligne que les temps d'exposition étaient généralement courts (de 15 minutes à 8 h) dans les études où aucune cytotoxicité n'a été observée. Par ailleurs, le cadmium et le sélénium sont deux des constituants les plus souvent utilisés dans les points quantiques et ils sont reconnus pour causer de la toxicité aiguë et chronique chez les vertébrés (Hardman, 2006). La toxicité des points quantiques serait reliée à la stabilité de l'enrobage de surface (Hardman, 2006 ; Powell et Kanarek, 2006). Selon Lovric *et al.* (2005), les points quantiques commerciaux conjugués à des protéines ont une plus grande taille que les points quantiques de CdTe ou de CdSe non recouverts et non conjugués et sont considérés comme non toxiques à des concentrations entre 20 et 40 nmol.

Le tableau 5 résume les effets sur la santé de nanocapsules, nanosphères, nanoquilles et dendrimères alors que le tableau 6 résume ceux pour les points quantiques.

12. CONCLUSION

Cette seconde édition de revue de littérature relative aux risques pour la santé reliés aux NP permet d'une part, de réaliser l'ampleur des recherches actuelles dans ce domaine et, d'autre part, de constater que les connaissances actuelles des effets toxiques des NP sont encore relativement limitées. Les données disponibles indiquent néanmoins clairement que certaines NP insolubles peuvent franchir les différentes barrières de protection, se distribuer dans l'organisme et s'accumuler dans certains organes et à l'intérieur des cellules. Des effets toxiques ont déjà été documentés aux niveaux pulmonaire, cardiaque, reproducteur, rénal, cutané et cellulaire. Des accumulations significatives ont été démontrées au niveau des poumons, du cerveau, du foie, de la rate et des os.

Alors qu'un premier bilan concluait que la toxicité était bien corrélée à la surface des particules et non à leur masse, il apparaît maintenant clairement que la situation est énormément plus complexe et que de nombreux autres facteurs peuvent influencer la toxicité de ces produits. On y retrouve notamment la taille, le nombre de particules, la forme et la structure cristalline, la tendance à l'agrégation, la réactivité de surface, la composition chimique et la solubilité. Les méthodes de synthèse et de recouvrement de surface comptent parmi d'autres facteurs pouvant affecter la toxicité. Évidemment, l'évaluation du risque devra également tenir compte de la voie d'exposition, de la durée et de la concentration de même que de la susceptibilité individuelle ainsi que de l'interaction des particules avec les composantes biologiques et leur devenir biologique.

Le développement de nouveaux matériaux dans ce domaine se poursuit inlassablement et les effets sur la santé ne peuvent pas être tous étudiés (Won Kang et Hwang, 2004). De plus, les essais toxicologiques devront tenir compte que les NP subissent normalement des modifications de surface afin d'éviter l'agrégation. Actuellement, environ 90 % des NP de TiO₂ subissent un traitement post-production et sont recouvertes de substances minérales ou organiques (Borm, 2005), ce qui pourrait modifier radicalement leurs propriétés toxicologiques.

Quoique de grandes tendances se dessinent et démontrent de nombreux effets toxiques reliés aux NP, il ressort que chaque produit pourrait avoir une toxicité qui lui est propre. Les effets toxiques documentés sur des animaux de même que les caractéristiques physico-chimiques des NP justifient, sur la base d'une approche de prévention et du principe de précaution, de prendre dès à présent toutes les mesures nécessaires pour limiter l'exposition et protéger la santé des personnes potentiellement exposées. Dans un tel contexte, les auteurs sont d'avis que l'IRSSST devrait promouvoir l'instauration de procédures strictes de prévention qui demeure la seule façon de prévenir l'exposition professionnelle et le risque de développement de maladies professionnelles autant au niveau des chercheurs et des étudiants qui font le développement que des travailleurs qui oeuvrent à la synthèse, à la transformation ou à l'utilisation de NP. Dans ce sens, un guide de bonnes pratiques sera publié par l'IRSSST en 2008. Les auteurs recommandent que l'IRSSST axe ses efforts de recherche sur le développement de stratégies et d'outils d'évaluation de l'exposition de même que sur le développement et la mesure de l'efficacité de moyens de contrôle de l'exposition professionnelle aux NP.

13. BIBLIOGRAPHIE

Afsset, Agence française de sécurité sanitaire de l'environnement et du travail, 2006. Les nanomatériaux : Effets sur la santé de l'homme et sur l'environnement, juillet 2006, 248 pages. http://www.afsset.fr/upload/bibliotheque/587621558014304413168640606286/synthese_nanomatériaux_2006.pdf.

Aitken RJ, Creely KS, Tran CL, 2004. Nanoparticles: an occupational hygiene review. Sudbury, Suffolk, G.-B. HSE, 100p. <http://www.hse.gov.uk/research/rrpdf/rr274.pdf>.

Akerman ME, Chan WC, Laakkonen P, Bhatia SN, Ruoslahti E, 2002. Nanocrystal targeting in vivo. *Proc Natl Acad Sci USA*, 99 (20) : 12617-21.

Alvarez-Román R, Naik A, Kalia YN, Guy RH, Fessi H, 2004. Skin penetration and distribution of polymeric nanoparticles. *Journal of Controlled Release*, 99 : 53-62.

Andrievsky G, Klochkov V, Derevyanchenko L, 2005. Is the C₆₀ Fullerene Molecule Toxic? *Fullerenes, Nanotubes, and Carbon Nanostructures*, 13 : 363-376.

Aprahamian M, Michel C, Humbert W, Devissaguet JP, Damge C, 1987. Transmucosal passage of polyalkylcyanoacrylate nanocapsules as a new drug carrier in the small intestine. *Biol Cell* 61 (1-2) : 69-76.

Arnall AH, 2003. Future technologies, today's choices, nanotechnology, artificial intelligence and robotics a technical, political and institutional map of emerging technologies. London, G.-B. Greenpeace Environmental Trust, 69 p. <http://www.greenpeace.org.uk/MultimediaFiles/Live/FullReport/5886.pdf>.

Babynin EV, Nuretdinov IA, Gubskaja VP, Barabanschikov BI, 2002. Study of mutagenic activity of fullerene and some of its derivatives using His⁺ reversions of Salmonella typhimurium as an example. *Genetika*, Apr 38 (4) : 453-457. [Article en Russe]

Barlow PG, Clouter-Baker A, Donaldson K, MacCallum J, Stone V, 2005a. Carbon black nanoparticles induce type II epithelial cells to release chemotaxins for alveolar macrophages, *Particle and Fibre Toxicology*, 2 : 11. <http://www.particleandfibretoxicology.com/content/2/1/11>.

Barlow PG, Donaldson K, MacCallum J, Clouter A, Stone V, 2005b. Serum exposed to nanoparticle carbon black displays increased potential to induce macrophage migration. *Toxicol Lett* 155 (3) : 397-401.

Bateson TF, Schwartz J, 2001. Selection bias and confounding in case-crossover analyses of environmental time-series data. *Epidemiology* 12 : 654-661.

Bergeron S, Archambault É, 2005. Canadian Stewardship Practices for Environmental Nanotechnology, Science-Metrix, Montréal, Mars 2005, 65 p.

Bodegal M, Gleiche M, Guibert JC, Hoffschulz H, Locatelli S, Malsh I, Morrison M, Nicolle C, Wagner V, 2003. Nanotechnology and its implications for the health of the EU citizen. Mark Morrison, Éd.

Borm PJA, 2003. Toxicology of ultrafine particles, *In BIA-Report 7/2003e: BIA-Workshop "Ultrafine aerosols at workplace"*, 21 and 22 August 2002 at the BG Institute for Occupational Safety and Health – BIA, Sankt Augustin, Germany, p. 41-58. Page d'accueil visionnée le 24/04/06 . http://www.hvbg.de/e/bia/pub/rep/rep04/pdf_datei/biar0703/topic_b.pdf

Borm PJA, Schins RPF, Albrecht CA, 2004. Inhaled particles and lung cancer. Part B: Paradigms and risk assessment. *Int J Cancer*, 110 (1) : 3-14. Review.

Borm PJA, 2005. Hazards and risks of nanomaterials: a look forward, 2005. Compte-rendu du First International Symposium on Occupational Health Implications of Nanomaterials, 12 au 14 octobre 2004, Buxton, Grande-Bretagne. Édité par le Health and Safety Executive Grande-Bretagne et le National Institute for Occupational Safety and Health, États-Unis, juillet 2005, p 65-71. http://www.hsl.gov.uk/capabilities/nanosymrep_final.pdf.

Borm PJA, Cakmak G, Jermann E, Weishaupt C, Kempers P, Van Schooten FJ, Oberdorster G, Schins RPF, 2005. Formation of PAH-DNA adducts after in vivo and vitro exposure of rats and lung cells to different commercial carbon blacks, *Toxicology and Applied Pharmacology*, 205 : 157-167.

- Borm PJA, Robbins D, Haubold S, Kuhlbusch T, Fissan H, Donaldson K, Schins R, Stone V, Kreyling W, Lademann J, Krutmann J, Warheit D, Oberdörster E, 2006a. The potential risks of nanomaterials: a review carried out for ECETOC. *Particle and Fibre Toxicology*, 3 : 11.
- Borm P, Klaessig FC, Landry TD, Moudgil B, Pauluhn J, Thomas K, Trottier R, Wood S, 2006b. Research strategies for safety evaluation of nanomaterials, part V: role of dissolution in biological fate and effects of nanoscale particles, *Toxicological Sciences* 90 (1) : 23-32.
- Bosi S, Feruglio L, Da Ros T, Spalluto G, Gregoretto B, Terdoslavich M, Decorti G, Passamonti S, Moro S, Prato M, 2004. Hemolytic Effects of Water-Soluble Fullerene Derivatives. *Journal of Medicinal Chemistry*, 47 : 6711-6715.
- Bosman SJ, Nieto SP, Patton WC, Jacobson JD, Coreselli JU, Chan PJ, 2005. Development of mammalian embryos exposed to mixed-size nanoparticles. *Clinical and Experimental Obstetrics and Gynecology* 32(4) : 222-224.
- Bottini M, Bruckner S, Nika K, Bottini N, Bellucci S, Magrini A, Bergamaschi A, Mustelin T, 2006. Multi-walled carbon nanotubes induce T lymphocyte apoptosis, *Toxicology Letters*, 160 : 121-126.
- Braydich-Stolle L, Hussain S, Schlager JJ, Hoffman M-C, 2005. *In Vitro* Cytotoxicity of Nanoparticles in Mammalian Germline Stem Cells. *Toxicological Sciences*, 88 (2) : 412-419.
- Braydich-Stolle LK, Hussain S, Schlager JJ, Hoffman M-C, 2006. Effect of Silver Nanoparticles on SRC Activity in Male Germ-Line Stem Cells. Air Force Research Laboratory, Human Effectiveness Directorate, Wright-Patterson AFB, OH USA.
<http://stinet.dtic.mil/oai/oai?&verb=getRecord&metadataPrefix=html&identifier=ADA444778>.
- Brenneman KA, Wong BA, Buccellato MA, Costa ER, Gross EA, Dorman DG, 2000. Direct olfactory transport of inhaled manganese (⁵⁴MnCl₂) to the rat brain: toxicokinetic investigations in a unilateral nasal occlusion model. *Toxicol Appl Pharmacol* 169 : 238-248.
- Brown DM, Stone V, Findlay P, MacNee W, Donaldson K, 2000. Increased inflammation and intracellular calcium caused by ultrafine carbon black is independent of transition metals or other soluble components. *Occupational and Environmental Medicine*, 57 : 685-691.
- Brown JS, Zeman KL, and Bennett WD, 2002. Ultrafine Particle Deposition and Clearance in the Healthy and Obstructed Lung. *Am J Respir Crit Care Med* 166 : 1240-1247.
- Brunekreef B, Janssen NAH, de Hartog JJ, Oldenwening M, Meliefste K, Hoek G, Lanki T, Timonen KL, Vallius M, Pekkanen J, Van Grieken R, 2005. Personal indoor and outdoor exposures to PM_{2.5} and its components for groups of cardiovascular patients in Amsterdam and Helsinki. Health Effects Institute, Report 127, janvier, 79 p.
- Bruske-Hohlfeld I, Peters A, Wichmann HE, 2005. Epidemiology of nanoparticles. Compte-rendu du First International Symposium on Occupational Health Implications of Nanomaterials, 12 au 14 octobre 2004, Buxton, Grande-Bretagne, édité par le Health and Safety Executive Grande-Bretagne et le National Institute for Occupational Safety and Health, États-Unis, juillet 2005, p 53-58.
http://www.hsl.gov.uk/capabilities/nanosymprep_final.pdf.
- Bucher JR, 2006. Evaluating Human Health Risks from Nanomaterials. National Toxicology Program, September 7, 2006. <http://www.toxicology.org/ai/gm/Bucher.pdf>.
- Cahouet A, Denizot B, Hindre F, Passirani C, Heurtault B, Moreau M, Le Jeune J, Benoit J, 2002. Biodistribution of dual radiolabeled lipidic nanocapsules in the rat using scintigraphy and gamma counting. *Int J Pharm* 242 (1-2) : 367-71.
- Cassee FR, Muijsers H, Duistermaat E, Freijer JJ, Geerse KB, Marijnissen JC, Arts JH, 2002. 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* 76 (5-6) : 277-86.
- Chen B, Wilson S, Das M, Coughlin D, Erlanger B, 1998a. Antigenicity of fullerenes: antibodies specific for fullerenes and their characteristics. *Proc Natl Acad Sci USA* 95 : 10809-10813.
-

- Chen HH, Yu C, Ueng TH, Chen S, Chen BJ, Huang KJ, Chiang LY, 1998b. Acute and subacute toxicity study of water-soluble polyalkylsulfonated C₆₀ in rats. *Toxicol Pathol* 26 (1) : 143-51.
- Chen Y-W, Hwang KC, Yen C-C, Lai Y-L, 2004. Fullerene derivatives protect against oxidative stress in RAW 264.7 cells and ischemia-reperfused lungs. *American Journal of Physiology Regulatory Integrative and Comparative Physiology*, 287 : R21-R26.
- Chen Z, Meng H, Xing G, Chen C, Zhao Y, Jia G, Wang T, Yuan H, Ye C, Zhao F, Chai Z, Zhu C, Fang X, Ma B, Wan L, 2006a. Acute toxicological effects of copper nanoparticles in vivo. *Toxicology Letters* 163 (2) : 109-120.
- Chen HW, Sheng-Fang Su, Chien CT, Lin WH, Yu SL, Chou CC, Chen JJW, Yang PC, 2006b. Titanium dioxide nanoparticles induce emphysema-like lung injury in mice. *The FASEB Journal*. 2006 (20) : 2393-2395.
- Cherukuri P, Bachilo SM, Litovsky SH, Weisman RB, 2004. Near-infrared fluorescence microscopy of single-walled carbon nanotubes in phagocytic cells. *J Am Chem Soc* 126 : 15638-15639.
- Christiansen K, 2004. Background paper on environmental and risk aspects of nanotechnology. Copenhagen: Ministry of Science, Technology and Innovation. 30 p.
- Colvin VL, 2003. The Potential Environmental Impact of Engineered Nanomaterials, *Nature Biotechnology*, 21(10) : 1166-1170.
- Commission Européenne, 2004. Direction générale santé et protection des consommateurs. *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*. Luxembourg : Office des publications officielles des Communautés Européennes, 2004, 143 p. http://europa.eu.int/comm/health/ph_risk/documents/ev_20040301_en.pdf
- Couvreur T, Kante B, Grislain L, Roland, M, Speiser, P, 1982. Toxicity of polyalkyl-cyanoacrylate nanoparticles II: doxorubicin-loaded nanoparticles. *J Pharm Sci* 71 (7) : 790-792.
- Cross SE, Innes B, Roberts MS, Tsuzuki T, Robertson TA, McCormick P, 2007. Human skin penetration of sunscreen nanoparticles : in vitro assessment of a novel micronized zinc oxide formulation. *Skin Pharmacology and Physiology* 20 (3) : 148-154.
- CSST, 2005. Rapport annuel d'activité 2004. Commission de la santé et de la sécurité du travail du Québec, 79 p.
- Cui D, Tian F, Ozkan CS, Wang M, Gao H, 2005. Effect of single wall carbon nanotubes on human HEK293 cells. *Toxicol Lett* 155 : 73-85.
- Daigle CC, Chalupa DC, Gibb FR, Morrow PE, Oberdörster G, Utell MJ, 2003. Ultrafine particle deposition in humans during rest and exercise. *Inhal Toxicol* 15 : 539-552.
- Dailey LA, Jekel N, Fink L, Gessler T, Schmehl T, Wittmar M, Kissel T, Seeger W, 2006. Investigation of the proinflammatory potential of biodegradable nanoparticles drug delivery systems in the lung. *Toxicology and Applied Pharmacology* 215 (1) : 100-108.
- De Guire L, Camus M, Case B, Langlois A, Laplante O, Lebel G, Lévesque B, Rioux M, Siemiatycki J, 2003. Épidémiologie des maladies reliées à l'exposition à l'amiante : rapport. Sous-comité sur l'épidémiologie des maladies reliées à l'exposition à l'amiante. INSPQ. INSPQ-2003-046. <http://www.inspq.qc.ca/>
- De Lorenzo A, 1970. In Taste and Smell in Vertebrates édité par G. Wolstenholme, JP Knight, CIBA Foundation Symposium Series, London, p 151.
- Department for Environment, Food and Rural Affairs, 2006. Characterising the potential risks posed by engineered nanoparticles, UK Government research – a progress report, octobre, 95 p. <http://www.defra.gov.uk/environment/nanotech/research/reports/progress-report061019.pdf>.
- Derfus AM, Chan WCW, Bhatia SN, 2004. Probing the cytotoxicity of semiconductor quantum dots. *Nanoletters* 4 (1).
-

- Dhawan A, Taurozzi JS, Pandey AK, Shan W, Miller SM, Hashsham SA, Tarabara VV, 2006. Stable colloidal dispersions of C₆₀ Fullerenes in water: Evidence for Genotoxicity. *Env Sci & Technol* 40 (23) : 7394-7401.
- Ding L, Stilwell J, Zhang T, Elboudwarej O, Jiang H, Selegue JP, Cooke PA, Gray JW, Chen FF, 2005. Molecular Characterization of the Cytotoxic Mechanism of Multiwall Carbon Nanotubes and Nano-Onions on Human Skin Fibroblast. *Nano Letters* 5 (12) : 2448-2464.
- Dobrovolskaia MA, McNeil SE, 2007. Immunological properties of engineered nanomaterials. *Nature Nanotechnology*, publié en ligne 29 juillet 2007, doi:10.1038/nnano.2007.223.
- Dockery DW, Pope CA, 1994. *Annu Rev Public Health* 15 : 107.
- 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. *JAMA* 295 (10) : 1127-1134.
- Donaldson K, Stone V, Clouter A, Renwick L, MacNee W, 2001. Ultrafine particles. *Occup Environ Med*, 58 (3) : 211-6.
- Donaldson K, Tran L, Jimenez LA, Duffin R, Newby DE, Mills N, MacNee W, Stone V, 2005. Combustion-derived nanoparticles: a review of their toxicology following inhalation exposure. *Part Fibre Toxicol.* 2 : 10. doi : 10.1186/1743-8977-2-10. [PubMed]
- Donaldson K, 2005. The toxicology of airborne nanoparticules p 30-34. Compte-rendu du First International Symposium on Occupational Health Implications of Nanomaterials, 12 au 14 octobre 2004, Buxton, Grande-Bretagne, édité par le Health and Safety Executive Grande-Bretagne et le National Institute for Occupational Safety and Health, États-Unis, juillet 2005. http://www.hsl.gov.uk/capabilities/nanosymrep_final.pdf.
- Donaldson K, Aitken R, Tran L, Stone V, Duffin R, Forrest G, Alexander A, 2006. Carbon Nanotubes: a Review of Their Properties in Relation to Pulmonary Toxicology and Workplace Safety. *Toxicological Sciences*, 92 (1) : 5-22.
- Dorman DC, Breneman KA, McElveen AM, Lynch SE, Roberts KC, Wong BA, 2002. Olfactory transport: a direct route of delivery of inhaled manganese phosphate to the rat brain. *J Toxicol Environ Health* 65 : 1493-1511.
- Douglas DJ, Davis SS, Illum L, 1996. Biodistribution of poly(butyl 2-cyanoacrylate) nanoparticules in rabbits. *Int J Pharm* 34 : 146-152.
- Dreher KL, 2003. Nanotechnology implications in health and the environment. In: National science and technology council. Committee on technology. Subcommittee on nanoscale science engineering and technology. *Nanotechnology grand challenge in the environment*, p. 40-44. Arlington, Virginia, National Science and Technology Council. http://134.67.99.14/ncer/nano/publications/nanotechnology_4-20-04.pdf.
- Driscoll KE, Carter JM, Howard BW, Hassenbein DG, Pepelko W, Baggs RB, Oberdörster G, 1996. Pulmonary inflammatory, chemokine, and mutagenic responses in rats after subchronic inhalation of carbon black. *Toxicology and Applied Pharmacology*, 136 (2): 372-380.
- Dubertret B, Skourides P, Norris DJ, Noireaux V, Brivanlou AH, Libchaber A. 2002. In vivo imaging of quantum dots encapsulated in phospholipid micelles. *Science* 298 (5599) : 1759-62.
- Dobrovolskaia MA, McNeil SE, 2007. Immunological properties of engineered nanomaterials. *Nature Nanotechnology*, publié en ligne 29 juillet 2007.
- Dumortier H, Lacotte S, Pastorin G, Marega R, Wi W, Bonifazi D, Briand JP, Prato M, Muller S, Bianco A, 2006. Functionalized carbon nanotubes are non-cytotoxic and preserve the functionality of primary immune cells, *NanoLetters* 6 (7) : 1522-1528.
- Duncan R, Izzo L, 2005. Dendrimer biocompatibility and toxicity. *Advanced Drug Delivery Reviews*, 57 : 2215-2237.
-

- Durrenberger F, Hock J, Hohener K, 2004. *Overview of completed and ongoing activities in the field: safety and risks of nanotechnology*. Arbon, Suisse, Temas Ag. 60 p.
[http://www.temas.ch/nano/nano_homepage.nsf/vwRes/Safety/\\$FILE/NANOSafety_Version2_2.pdf](http://www.temas.ch/nano/nano_homepage.nsf/vwRes/Safety/$FILE/NANOSafety_Version2_2.pdf)
- Elder ACP, Gelein R, Finkelstein JN, Cox C, Oberdörster G, 2000. Pulmonary inflammatory response to inhaled ultrafine particles is modified by age, ozone exposure, and bacterial toxin. *Inhalation Toxicology* 12 (Suppl. 4) : 227-246.
- Elder ACP, Gelein R, Azadniv M, Frampton M, Finkelstein J, Oberdörster G, 2002. Systemic interactions between inhaled ultrafine particles and endotoxin. *Ann Occup Hyg* 46 (Suppl 1) : 231-234.
- Elder ACP, Gelein R, Azadniv M, Frampton M, Finkelstein J, Oberdörster G, 2004. Systemic effects of inhaled ultrafine particles in two compromised, aged rat strains. *Inhal Toxicol* 16 : 461-471.
- Elder A, Gelein R, Silva V, Fiekert T, Opanashuk L, Carter J, Potter R, Maynard A, Ito Y, Finkelstein J, Oberdorster G, 2007. Translocation of Inhaled Ultrafine Manganese Oxide Particles to the Central Nervous System. *Env Health Perspec* 114(8) : 1172-1178.
- Feigenbaum D, Nsamirisi A, Sinclair-Desgagné B, 2004. *Les Nanotechnologies: leurs bénéfiques et leurs risques potentiels*. Montréal, CIRANO, 45 p. <http://www.cirano.qc.ca/pdf/publication/2004s-44.pdf>
- Fenoglio I, Tomatis M, Lison D, Muller J, Fonseca A, Nagy JB, Fubini B, 2006. Reactivity of carbon nanotubes : Free radical generation or scavenging activity? *Free Radical Biology and Medicine*, 40: 1227-1233.
- Ferin J, Oberdörster G, Penney DP, 1992. Pulmonary retention of fine and ultrafine particles in rats. *Am J Respir Cell Mol Biol* 6 : 535-542.
- Fernandez-Urrusuno R, Fattal E, Feger J, Couvreur P, Therond P, 1997. Evaluation of hepatic antioxidant systems after intravenous administration of polymeric nanoparticles. *Biomaterials* 18 : 511-517.
- Fiorito S, Serafino A, Andreola F, Togna A, Togna G, 2006a. Toxicity and Biocompatibility of Carbon Nanoparticles. *Journal of Nanoscience and Nanotechnology*, 6 (3): 591-599.
- Fiorito S, Serafino A, Andreola F, Bernier P, 2006b. Effects of fullerenes and single-wall carbon nanotubes on murine and human macrophages. *Carbon* 44 : 1100-1105.
- Fiorito S, 2007. Carbon Nanoparticles: Benefits and Risks for Human Health *In Nanotoxicology, Interactions of Nanomaterials with Biological Systems*, édité par Zhao Y, Nalwa HS, American Scientific Publishers, 2007, p 167-180.
- Fortner JD, Lyon DY, Sayes CM, Boyd AM, Falkner JC, Hotze EM, Alemany LB, Tao YJ, Guo W, Ausman KD, Colvin VL, Hughes JB, 2005. C₆₀ in Water: Nanocrystal Formation and Microbial Response. *Environmental Science and Technology*, 39 : 4307-4316.
- Frampton MW, Utell MJ, Zareba W, Oberdörster G, Cox C, Huang L-S, Morrow PE, Lee F E-H, Chalupa D, Frasier LM, Speers DM, Stewart J, 2004. Effects of Exposure to Ultrafine Carbon Particles in Healthy Subjects. Health Effects Institute, Research Report 126, 74p.
<http://www.healtheffects.org/Pubs/Frampton2004.pdf>
- Fukui H, Koike T, Saheki A, Sonoke S, Tomii Y, Seki J, 2003. Evaluation of the efficacy and toxicity of amphotericin B incorporated in lipid nano-sphere (LNS®). *Int J Pharm* 263 (1-2) : 51-60.
- Gatti AM, Rivasi F, 2002. Biocompatibility of micro and nanoparticles. Part I: in liver and kidney. *Biomaterials*, 23 (11): 2381-7.
- Gatti AM, 2004. Biocompatibility of micro- and nano-particles in the colon. Part II. *Biomaterials* 25 (3) : 385-92.
- Germain MA, Hatton A, Williams S, Matthews JB, Stone MH, Fisher J, Ingham E, 2003. Comparison of the cytotoxicity of clinically relevant cobalt-chromium and alumina ceramic wear particles in vitro. *Biomaterials* 24 (3) : 469-79.
- Gibaud S, Demoy M, Andreux JP, Weingarten C, Gouritin B, Couvreur P, 1996. Cells involved in the capture of nanoparticles in hematopoietic organs. *J Pharm Sci* 85 (9) : 944-950.
-

- Gojova A, Guo B, Kota RS, Rutledge JC, Kennedy IM, Barakat AL, 2007. Induction of inflammation in vascular endothelial cells by metal oxide nanoparticles: effect of particle composition. *Environ Health Persp* 115 (3) : 403-409.
- Goodman CM, McCusker CD, Yilmaz T, Rotello VM, 2004. Toxicity of gold nanoparticles functionalized with cationic and anionic side chains. *Bioconjug Chem* 15 (4) : 897-900.
- Grassian VH, O'Shaughnessy PT, Adamcakova-Dodd A, Pettibone JM, Thorne PS, 2007. Inhalation exposure study of titanium dioxide nanoparticles with a primary particle size of 2 to 5 nm, *Environmental Health Perspectives*, 115 (3) : 397-402.
- Green TR, Fisher J, Stone MH, Wroblewski BM, Ingham E, 1998. Polyethylene particles of a 'critical size' are necessary for the induction of cytokins by macrophages in vitro. *Biomaterials* 19 : 2297-2302.
- Green M, Howman E, 2005. Semiconductor quantum dots and free radical induced DNA nicking. *Chem Commun (Camb)* (1) : 121-3.
- Grubek-Jaworska H, Nejman P, Czuminska K, Przybylowski T, Huczko A, Lange H, Bystrzejewski M, Baranowski P, Chazan R, 2006. Preliminary results on the pathogenic effects of intratracheal exposure to one dimensional nanocarbons. *Carbon* 44 : 1057-1063.
- Gupta AK, Gupta M, 2005. Cytotoxicity suppression and cellular uptake enhancement of surface modified magnetic nanoparticles. *Biomaterials*, 26 : 1565-1573.
- Gurr JR, Wang ASS, Chen CH, Jan KY, 2005. Ultrafine titanium dioxide particles in the absence of photoactivation can induce oxidative damage to human bronchial epithelial cells. *Toxicology*, 213 : 66-73.
- Haasch ML, McClellan-Green P, Oberdörster E, 2005. Consideration of The Toxicity of Manufactured Nanoparticles. American Institute of Physics Conference Proceedings, September 27, 2005, Volume 786, p. 586-590.
- Hainfeld JF, Slatkin DN, Smilowitz HM, 2004. The use of gold nanoparticles to enhance radiotherapy in mice. *Phys Med Biol* 49 (18) : N309-15.
- Hameed Hyder MA, 2003. *Nanotechnology and environment: potential applications and environmental implications of nanotechnology*. Master's Thesis, Technische Universität Hamburg-Harburg, Allemagne. http://www.nanoforum.de/dateien/temp/HyderFinalV-NT_Thesis.pdf?03052005151941
- Harder V, Gilmour P, Lentner B, Karg E, Takenaka S, Ziesenis A, Stampfl A, Kodavanti U, Heyder J, Schulz, H, 2005. Cardiovascular Responses in Unretrained WKY Rats to Inhaled Ultrafine Carbon Particles. *Inhal. Toxicol.* 17 : 29-42.
- Hardman R, 2006. A Toxicologic Review of Quantum Dots : Toxicity Depends on Physicochemical and Environmental Factors. *Environmental Health Perspectives* 114 (2) : 165-172.
- Harris PJF, 1999. Carbon nanotubes and related structures. Cambridge University Press, 279 p.
- Health and Safety Executive. 2004. Health effects of particles produced for nanotechnologies., Health and Safety Executive, Grande-Bretagne. 37 pages et annexes. <http://www.hse.gov.uk/horizons/nanotech/healtheffects.pdf>
- Hervé-Bazin B, 2005. Valeurs limites « poussières totales et alvéolaires » : nécessité d'une ré-évaluation. INRS – Hygiène et sécurité du travail – Cahiers de notes documentaires – 1^{er} trimestre 2005 – 198, p. 55-64.
- Hett A, 2004. *Nanotechnology: small matter, many unknowns*. Zurich, Suisse, Swiss Re. [http://www.swissre.com/INTERNET/pwsfilpr.nsf/vwFilebyIDKEYLu/ULUR-68AKZF/\\$FILE/Publ04_Nano_en.pdf](http://www.swissre.com/INTERNET/pwsfilpr.nsf/vwFilebyIDKEYLu/ULUR-68AKZF/$FILE/Publ04_Nano_en.pdf).
- Hillyer JF, Albrecht RM, 2001. Gastrointestinal persorption and tissue distribution of differently sized colloidal gold nanoparticles. *J Pharm Sci* 90 (12) : 1927-36.
- Hoet PHM, Brüske-Hohlfeld I, Salata OV, 2004a. Nanoparticles - known and unknown health risks. *Journal of Nanobiotechnology*, 2 (1): 12-26. <http://www.jnanobiotechnology.com/content/pdf/1477-3155-2-12.pdf>
-

- Hoet PHM, Nemmar A, Nemery B, 2004b. Health Impact of nanomaterials? *Nature Biotech*, 22 (1) : 19.
- Hohr D, Steinfartz Y, Schins RP, Knaapen AM, Martra G, Fubini B, Borm PJ, 2002. The surface area rather than the surface coating determines the acute inflammatory response after instillation of fine and ultrafine TiO₂ in the rat. *Int J Hyg Environ Health* 205 (3) : 239-44.
- Holister P, Roman V, Harper T, 2003. *Fullerenes. Technology White Papers #7*. [S.l.] Cientifica, 2003, 12 p. http://www.cientifica.com/html/Whitepapers/wpfiles/fullerenes_WP.pdf.
- Huczko A, Lange H, 2001a. Carbon nanotubes: experimental evidence for a null risk of skin irritation and allergy. *Fullerene Sci Technol* 9 (2) : 247-250.
- Huczko A, Lange H, Calko E, Grubek-Jaworska H, Droszcz P, *et al.*, 2001b. Physiological testing of carbon nanotubes: are they asbestos-like? *Fullerene Sci Technol* 9 (2) : 251-254.
- Huczko A, Lange H, Bystrzejewski M, Baranowski P, Grubek-Jaworska H, Nejman P, Przybylowski T, Czumińska K, Glapiński J, Walton DRM, Kroto HW, 2005. Pulmonary toxicity of 1-D nanocarbon materials. *Fullerenes, nanotubes, and carbon nanostructures*, 13 : 141-145.
- Hurt RH, Monthieux M, Kane A, 2006. Toxicology of carbon nanomaterials: status, trends, and perspectives on the special issue. *Carbon* 44 : 1-28-1033.
- Hussain N, Jaitley V, Florence AT, 2001. Recent advances in the understanding of uptake of microparticulates across the gastrointestinal lymphatics. *Adv Drug Deliv Rev* 50 (1-2) : 107-42.
- IARC, 1996. Monographs on the Evaluation of Carcinogenic Risks to Human, Summary and Evaluation, Carbon Black (Group 2B), volume 65. Page d'accueil visionnée le 21/04/2006. <http://www.inchem.org/documents/iarc/vol65/carbon.html>.
- IARC, 2006a. Working Group on the Evaluation of Carcinogenic Risks to Humans, Carbon Black, Titanium Dioxide and Non-Asbestiform Talc. IARC monographs on the evaluation of carcinogenic risks to humans, Vol. 93. Lyon : International Agency for Research on Cancer.
- IARC, 2006b. Monographs on the Evaluation of Carcinogenic Risks to Human, Titanium Dioxide (Group 2B), volume 93. <http://monographs.iarc.fr/ENG/Meetings/93-titaniumdioxide.pdf>
- Iijima, S, 1991. Helical microtubules of graphite carbon. *Nature* 354 : 56-58.
- Inoue K, Takano H, Yanagisawa R, Sakurai M, Ichinose T, Sadakane K, Yoshikawa T, 2005. Effects of nanoparticles on antigen-related airway inflammation in mice. *Respiratory Research*, 6 : 106.
- ISO, 2007. Air des milieux de travail – particules ultrafines, nanoparticules et aérosols nanostructurés – caractérisation et évaluation de l'exposition par inhalation. Rapport technique ISO/TR 27628, 34 p.
- Iwata N, Mukai T, Yamakoshi TN, Hara S, Yanase T, Shoji M, Endo T, Miyata N, 1998. Effects of C₆₀, a fullerene, on the activities of glutathione s-transferase and glutathione-related enzymes in rodent and human livers. *Fullerene Science and Technology* 6 (2) : 213-226.
- Jani P, Halbert GW, Langridge J, Florence AT, 1990. Nanoparticle uptake by rat gastrointestinal mucosa : quantification and particle size dependancy. *J Pharm Pharmacol* 42 : 821-826.
- Jaques PA, Kim CS, 2000. Measurement of total lung deposition of inhaled ultrafine particles in healthy men and women. *Inhal Toxicol* 12 : 715-731.
- Jia G, Wang H, Tan L, 2005a. Cytotoxicity of carbon nanomaterials: single-wall nanotube, multi-wall nanotube, and fullerene. *Env Sci Technol*, 39 (5) : 1378-1383.
- Jia X, Li N, Chen J, 2005b. A subchronic toxicity study of elemental Nano-Se in Sprague-Dawley rats. *Life Sciences*, 76 : 1989-2003.
- Kaewamatawong T, Shimada A, Okajima M, Inoue H, Morita T, Inoue K, Takano H, 2006. Acute and subacute pulmonary toxicity of low dose of ultrafine colloidal silica particles in mice after intratracheal instillation, *Toxicologic Pathology*, 34 : 958-965.
- Kagan VE, Tyurina YY, Tyurin VA, Konduru NV, Potapovich AI, Osipov AN, Kisin ER, Schwegler-Berry D, Mercer R, Castranova V, Shvedova AA, 2006. Direct and Indirect Effects of Single Walled Carbon Nanotubes on RAW 264.7 Macrophages: Role of Iron, *Toxicology Letters*, 165 (1) : 88-100.
-

- Kamat JP, Devasagayam TPA, Privadarsini KI, 1998. Oxydative damage induced by the fullerene C₆₀ on photosensitization in rat liver microsomes. *Chemico-Biological Interactions*. Vol. 114, p. 145-159.
- Kante B, Couvreur P, Dubois-Krack G, De Meester C, Guiot P, Roland M, Mercier M, Speiser P, 1982. Toxicity of polyalkylcyanoacrylate nanoparticles I: free nanoparticles. *Journal of Pharmaceutical Sciences* 71 (7) : 786-790.
- Katz LC, Burkhalter A, Dreyer WJ, 1984. Fluorescent latex microspheres as a retrograde neuronal marker for in vivo and in vitro studies of visual cortex. *Nature* 310 : 498-500.
- Kim CS, Jaques PA, 2000. *Phil Trans Roy Soc London A* 358 : 2693-2705.
- Kim JS, Yoon T-J, Yu KN, Kim BG, Park SJ, Kim HW, Lee KH, Park SB, Lee J-K, Cho MH, 2006. Toxicity and Tissue Distribution of Magnetic Nanoparticles in Mice. *Toxicological Sciences*, 89 (1) : 338-347.
- Kirchner C, Liedl T, Kudera S, Pellegrino T, Munoz Javier A, Gaub HE, Stolzle S, Fertig N, Parak WJ, 2005. Cytotoxicity of colloidal CdSe and CdSe/ZnS nanoparticles *Nano Lett* 5 (2) : 331-8.
- Koike E, Kobayashi T, 2006. Chemical and biological oxidative effects of carbon black nanoparticles, *Chemosphere*, 65 : 946-951.
- Kostarelos K, Lacerda L, Pastorin G, Wu W, Wieckowski S, Luangsivilay J, Godefroy S, Pantarotto D, Briand JP, Muller S, Prato M, Bianco A, 2007. Cellular uptake of functionalized carbon nanotubes is independent of functional group and cell type. *Nature Nanotechnology* 2 (2) : 108-113.
- Koziara JM, Lockman PR, Allen DD, Mumper RJ, 2003. In situ blood-brain barrier transport of nanoparticles. *Pharm Res* 20 (11) : 1772-1778.
- Kreuter J, 2001. Nanoparticulate systems for brain delivery of drugs. *Advance Drug Delivery Reviews* 47 : 65-81.
- Kreyling WG, Scheuch G, 2000. Chapter 7: Clearance of Particles deposited in the lungs. *In: Particle lungs interactions* (Gehr P, Heyder J, Eds), New-York – Basel: Marcel Dekker Inc, 323-376.
- Kreyling WG, Semmler M, Erbe F, Mayer P, Takenaka S, Schultz H, Oberdorster G, Ziesenis A, 2002. Ultrafine insoluble iridium particles are negligibly translocated from lung epithelium to extrapulmonary organs. *J Tox Environ Health* 65 (20) : 1513-1530.
- Kreyling WG, Semmler M, Moller W, 2004. Dosimetry and toxicology of ultrafine particles. *Journal of Aerosol Medicine* 17 (2) : 140-152.
- Kroto HW, Heath JR, O'Brian SC, 1985. C₆₀: Buckminsterfullerene. *Nature* 318 : 162-163.
- Krusik PJ, Wasserman E, Keizer PN, Morton JR, Preston KF, 1991. Radical Reactions of C₆₀. *Science* 254 : 1183 – 1185.
- Kuempel ED, 2006. Quantitative Risk Assessment Methods for Nanoparticles: Strategies and Data Needs, 1st International Conference on Nanotoxicology: Biomedical Aspects, February 1, 2006, Miami, Florida.
- Lademann J, Weigmann H, Rickmeyer C, Barthelmes H, Schaefer H, Mueller G, Sterry W, 1999. Penetration of titanium dioxide microparticles in a sunscreen formulation into the horny layer and the follicular orifice. *Skin Pharmacol Appl Skin Physiol* 12 (5) : 247-56.
- Lam CW, James JT, McCluskey R, Hunter RL, 2004a. Pulmonary toxicity of single-wall nanotubes in mice 7 and 90 days after intratracheal instillation. *Toxicological Sciences* 77 : 126-134.
- Lam PK, Chan ES, Ho WS, Liew CT, 2004b. In vitro cytotoxicity testing of a nanocrystalline silver dressing (Acticoat) on cultured keratinocytes. *Br J Biomed Sci* 61 (3) : 125-7.
- Lam CW, James JT, McCluskey R, Arepalli S, Hunter RL, 2006. A Review of Carbon Nanotube Toxicity and Assessment of Potential Occupational and Environmental Health Risks. *Critical Reviews in Toxicology* 36 (3) : 189-217.
- Lamy P, 2005. Nanomatériaux: Risques pour la santé et l'environnement. Centre National des Risques Industriels et Centre de Recherche sur la Matière Divisée.
-

<http://www.cnri-bourges.org/biblio/pdf/rapportlamy2.pdf>

Leong-Morgenthaler P, Horlbeck J, Suter F, Zulli F, 1997. Application of small lipid nanoparticles in vitro mutation assays. *In vitro Toxicology* 10 (1) : 129-132.

Li XY, Brown D, Smith S, MacNee W, Donaldson K, 1999. Short-term inflammatory responses following intratracheal instillation of fine and ultrafine carbon black in rats. *Inhalation Toxicology*, 11 (8) : 709-731.

Li Z, Salmen R, Hulderman T, Kisin E, Shvedova A, Luster MI, Simeonova PP, 2005. Pulmonary exposure to carbon nanotubes induces vascular toxicity. *The Toxicologist* 84 (S-1) : 213 (abstr. 1045).

Li ZJ, Chapman R, Hulderman T, Salmen R, Shvedova A, Luster MI, Simeonova PP, 2006. Relationship between pulmonary exposure to multiple doses of single wall carbon nanotubes and atherosclerosis in ApoE^{-/-} mouse model. *The Toxicologist*, 90 (1) : 213 (abstr. 1555).

Li Z, Hulderman T, Salmen R, Chapman R, Leonard SS, Young SH, Shvedova A, Luster MI, Simeonova PP, 2007. Cardiovascular effects of pulmonary exposure to single-wall carbon nanotubes. *Environ Health Perspect* 115 (3) : 377-382.

Limbach L, Li Y, Grass RN, Brunner TJ, Hintermann M, Muller M, Gunther D, Stark WJ, 2005. Oxide Nanoparticle Uptake in Human Lung Fibroblasts: Effects of Particle Size, Agglomeration, and Diffusion at Low Concentrations. *Environ. Sci. Technol.* 39 : 9370-9376.

Limbach LK, Wick P, Manser P, Grass RN, Bruinink A, Stark WJ, 2007. Exposure of engineered nanoparticles to human lung epithelial cells: influence of chemical composition and catalytic activity on oxidative stress. *Environ Sci Technol* 41 : 4158-4163.

Lockman PR, Mumper RJ, Khan MA, Allen DD, 2002. Nanoparticle technology for drug delivery across the blood-brain barrier. *Drug Development and Industrial Pharmacy* 28 (1) : 1-12.

Lockman PR, Koziara J, Roder KE, Paulson J, Abbruscato TJ, Mumper RJ, Allen DD, 2003. In vivo and in vitro assessment of baseline blood-brain barrier parameters in the presence of novel nanoparticles. *Pharm Res* 20 (5) : 705-713.

Lockman PR, Koziara JM, Mumper RJ, Allen DD, 2004. Nanoparticle Surface Charges Alter Blood-Brain Barrier Integrity and Permeability. *Journal of Drug Targeting* 12 (9-10) : 635-641.

Long TC, Saleh N, Tilton RD, Lowry GV, Veronesi B, 2006. Titanium Dioxide (P25) Produces Reactive Oxygen Species in Immortalized Brain Microglia (BV2): Implications for Nanoparticle Neurotoxicity. *Environ. Sci. Technol.*, 40 (14) : 4346-4352.

Lovric J, Bazzi HS, Cuie Y, Fortin GRA, Winnik M, Maysinger D, 2005. Differences in subcellular distribution and toxicity of green and red emitting CdTe quantum dots. *J. Mol. Med.* 83 : 377-385.

Lucarelli M, Gatti AM, Savarino G, Quattroni P, Martinelli L, Monari E, Boraschi D, Woolley DE, Tetlow LC, 2004. Innate defence functions of macrophages can be biased by nano-sized ceramic and metallic particles. Mast cell activation and its relation to proinflammatory cytokine production in the rheumatoid lesion. *Eur Cytokine Netw* 15 (4) : 339-46.

MacNee W, Donaldson K. 2000. How can ultrafine particles be responsible for increased mortality? *Monaldi Arch Chest Dis* 55 : 135-139.

Magrez A, Kasas S, Salicio V, Pasquier N, Seo JW, Celio M, Catsicas S, Schwaller B, Forró L, 2006. Cellular Toxicity of Carbon-Based Nanomaterials. *Nano Letters* 6(6) : 1121-1125.

Maitz MF, Pham MT, Wieser E, Tsyganov I, 2003. Blood compatibility of titanium oxides with various crystal structure and element doping. *J Biomater Appl* 17 (4) : 303-19.

Malik N, Wiwattanapatapee R, Klopsch R, Lorenz K, Frey H, Weener JW, Meijer EW, Paulus W, Duncan R, 2000. Relationship between structure and biocompatibility in vitro, and preliminary studies on the biodistribution of ¹²⁵I-labelled polyamidoamine dendrimers in vivo. *Journal of Controlled Release*, 65 : 133-148.

Malsch I, Gleiche M, Hoffschulz H, Locatelli S, Nicollet C, Guibert JC, Bøgedal M, Morrison M, Oud M, 2004. *Benefits, risks, ethical, legal and social aspects of nanotechnology*. [S.l.], Nanoforum, 2004. 162 p., (Nanoforum General Reports on Nanotechnology in Europe 4).

<http://www.nanoforum.de/dateien/temp/ELSIcomplete.pdf?22072004155706>

Manna SK, Sarkar S, Barr J, Wise K, Barrera EV, Jejelowo O, Rice-Ficht AC, Ramesh GT, 2005. Single-Walled Carbon Nanotube Induces Oxidative Stress and Activates Nuclear Transcription Factor-KB in Human Keratinocytes, *NanoLetters* 5 (9) : 1676-1684.

Mark D, 2005. Nanomaterials a risk to health at work? Proceedings of the first international symposium on occupational health implications of nanomaterials. Édité par Health and Safety Laboratory et le National Institute for Occupational Safety and Health, juillet 2005, 160 p.

http://www.hsl.gov.uk/capabilities/nanosymrep_final.pdf

Maynard AD, Baron PA, Foley M, Shvedova AA, Kisin ER, Castranova V, 2004. Exposure to Carbon Nanotube Material: Aerosol Release During the Handling of Unrefined Single-Walled Carbon Nanotube Material, Part A, *Journal of Toxicology and Environmental Health*, 67 (1) : 87-107.

Maynard AD, Kuempel ED, 2005. Airborne nanostructured particles and occupational health. *Journal of Nanoparticle Research*, 7 : 587-614.

Maynard AD, Ku BK, Emery M, Stolzenburg M, McMurry PH, 2007 Measuring particle size-dependent physicochemical structure in airborne single-walled carbon nanotube agglomerates. In Nanoparticles and Occupational Health, Édité par Maynard AD et Pui DYH, Springer, *Journal of Nanoparticle Research* 9 : 85-92.

Medina C, Santos-Martinez MJ, Radomski A, Corrigan OI, Radomski MW, 2007. Nanoparticles: pharmacological and toxicological significance. *Br J Pharmacol* 150 : 552-558.

Meiring JJ, Borm PJ, Bagate K, Semmler M, Seitz J, Takenaka S, Kreyling WG, 2005. The influence of hydrogen peroxide and histamine on lung permeability and translocation of iridium nanoparticles in the isolated perfused rat lung. *Part Fiber Toxicol* 27, 2 : 3.

Meng., C. Y. *et al.*, 2004. Biocompatibility and security of new type nano-hydroapatite crystals and polyamide for bone reconstruction and repair after implanting in vivo. *Chinese Journal of Clinical Rehabilitation* (China). 8 (29) : 6330-6333. Article en chinois.

Mikawa M, Kato H, Okumura M, Narazaki M, Kanazawa Y, Miwa N, Shinohara H, 2001. *Bioconjug. Chem* 12 : 510.

Mills NL, Amin N, Robinson SD, Anand A, Davies J, Patel D, de la Fuente JM, Cassee FR, Boon NA, MacNee W, Millar AM, Donaldson K, Newby DE, 2006. Do inhaled carbon nanoparticles translocate directly into the circulation in man ? *Am J Resp Crit Care Med* 173 (4) : 426-431.

Medina C, Santos-Martinez MJ, Radomski A, Corrigan OI, Radomski MW, 2007. Nanoparticles: pharmacological and toxicological significance, *British J Pharmacol*. 150 : 552-558.

Monteiro-Riviere NA, Inman AO, Wang YY, Nemanich RJ, 2005a. Surfactant effects on carbon nanotube interactions with human keratinocytes, *Nanomedicine:Nanotechnology, Biology, and Medicine*, 1 : 293-299.

Monteiro-Riviere NA, Namanich R, Inman A, Wang Y, Riviere J, 2005b. Multi-walled carbon nanotube interactions with human epidermal keratinocytes. *Toxicol Lett* 155 : 377-384.

Monteiro-Riviere NA, Inman AO, 2006. Challenges for assessing carbon nanomaterial toxicity to the skin, *Carbon* 44 : 1070-1078.

Monteiller C, Tran L, MacNee W, Faux S, Jones A, Miller B, Donaldson K, 2007. The pro-inflammatory effects of low solubility low toxicity particles, nanoparticles and fine particles, on epithelial cells in vitro: the role of surface area, *Occupational and Environmental Medicine*, publié en ligne le 4 avril 2007.

Morrison M, Bøgedal M, Gleiche M, Guibert JC, Hoffschulz H, Locatelli S, Malsch I, Nicollet C, Wagner V, 2003. Nanotechnology and its Implications for the Health of the EU Citizen. Publié par Nanoforum,

décembre 2003, 200 p. site internet [http://www.nanoforum.org/dateien/temp/Nanotechnology and its Implication for the Health of the EU Citizen \(18.12.03\).pdf?01032005154431](http://www.nanoforum.org/dateien/temp/Nanotechnology_and_its_Implication_for_the_Health_of_the_EU_Citizen_(18.12.03).pdf?01032005154431).

Moss OR, 2006. Insights into the health effects of nanoparticles: why numbers matter, *CITT Activities* 26 (2) : 1-7.

Mossman BT, Borm PJ, Castranova V, Costa DL, Donaldson K, Kleeberger SR, 2007. Mechanisms of action of inhaled fibers, particles and nanoparticles in lung and cardiovascular diseases. *Particle and Fibre Toxicology* 4 (4) : 10 pages, 30 mai 2007.

Moussa F, Pressac M, Genin E, Roux S, Trivin F, Rassat A, Ceolin R, Szwarc H, 1997. Quantitative analysis of C₆₀ fullerene in blood and tissues by high-performance liquid chromatography with photodiode-array and mass spectrometric detection. *J Chromatogr B Biomed Sci Appl* 696 (1) : 153-9.

Muller J, Huaux F, Moreau N, Misson P, Heilier JF, Delos M, Arras M, Fonseca A, Nagy JB, Lison D, 2005. Respiratory toxicity of multi-wall carbon nanotubes, *Toxicology and Applied Pharmacology*, 207 : 221-231.

Muller J, Huaux F, Lison D, 2006. Respiratory toxicity of carbon nanotubes: How worried should we be? *Carbon*, 44 : 1048-1056.

Murr LE, Garza KM, Soto KF, Carrasco A, Powell TG, Ramirez DA, Guerrero PA, Lopez DA, Venzor III J, 2005. Cytotoxicity Assessment of Some Carbon Nanotubes and Related Carbon Nanoparticle Aggregates and the Implications for Anthropogenic Carbon Nanotube Aggregates in the Environment. *International Journal of Environmental Research and Public Health* 2 (1) : 31-42.

Nel A, Xia T, Madler L, Li N, 2006. Toxic potential of materials at the nanolevel, *Science*, 311(5761) : 622-627.

Nelson MA, Domann FE, Bowden GT, Hooser SB, Fernando Q, Carter DE, 1993. Effects of acute and subchronic exposure of topically applied fullerene extracts on the mouse skin. *Toxicol Ind Health* 9 (4) : 623-30.

Nemmar A, Vanbilloen H, Hoylaerts F, Hoet PH, Verbruggen A, Nemery B, 2001. Passage of Intratracheally Instilled Ultrafine Particles from the Lung into the Systemic Circulation in Hamster. *Am J Respir Crit Care Med* 164 : 1665-1668.

Nemmar A, Hoet PH, Vanquickenborne B, Dinsdale D, Thomeer M, Hoylaerts MF, Vanbilloen H, Mortelmans L, Nemery B, 2002a. Passage of inhaled particles into the blood circulation in humans. *Circulation* 105 (4) : 411-4.

Nemmar A, Hoylaerts MF, Hoet PHM, Dinsdale D, Smith T, Xu H *et al.*, 2002b. Ultrafine particles affect experimental thrombosis in an in vivo hamster model. *Am J Respir Crit Care Med* 166 : 998-1004.

Nemmar A, Hoylaerts MF, Hoet PHM, Vermeylen J, Nemery B, 2003. Size effect of intratracheally instilled particles on pulmonary inflammation and vascular thrombosis. *Toxicol Appl Pharm* 186 : 38-45.

Nemmar A, Hamoir J, Nemery B, Gustin P, 2005. Evaluation of particle translocation across the alveolo-capillary barrier in isolated perfused rabbit lung model. *Toxicology*, 208 : 105-113.

Nigavekar SS, Sung LY, Llanes M, El-Jawahri A, Lawrence TS, Becker CW, Balogh L, Khan MK, 2004. ³H Dendrimer Nanoparticle Organ/Tumor Distribution. *Pharmaceutical Research*, 21 (3) : 476-483.

Nikula KJ, Avila KJ, Griffith WC, Mauderly JL, 1997. Lung tissue responses and sites of particle retention differ between rats and Cynomolgus monkeys exposed chronically to diesel exhaust and coal dust. *Fund Appl Toxicol* 37 : 37-53.

NIOSH, 2005. NIOSH Current Intelligence Bulletin : Evaluation of Health Hazard and Recommendations for Occupational Exposure to Titanium Dioxide. 158 p.
<http://www.cdc.gov/niosh/review/public/TIO2/pdfs/TIO2Draft.pdf>

Oberdörster G, Ferin J, Gelein R, Soderholm SC, Finkelstein J, 1992. Role of the alveolar macrophage in lung injury: studies with ultrafine particles. *Environ Health Persp* 97 : 193-197.

- Oberdörster G, Ferin J, Lehnert BE, 1994. Correlation between particle size, in vivo particle persistence, and lung injury. *Environ Health Perspect* 102 (Suppl 5) : 173-9.
- Oberdörster G, Finkelstein JN, Johnston C, Gelein R, Cox C, Baggs R *et al.*, 2000. HEI Research Report : Acute pulmonary effects of ultrafine particles in rats and mice. HEI Research Report No. 96, August, 2000, Health Effects Institute.
- Oberdörster G. 2001. Pulmonary effects of inhaled ultrafine particles. *Int Arch Occup Environ Health* 74 : 1-8.
- Oberdörster G, Sharp Z, Atudorei V, Elder A, Gelein R, Lunts A, Kreyling W, Cox C, 2002. Extrapulmonary translocation of ultrafine carbon particles following whole-body inhalation exposure of rats. *J Toxicol Environ Health A* 65 (20) : 1531-43.
- Oberdörster G, 2002. Toxicokinetics and effects of fibrous and nonfibrous particles. *Inhal Toxicol* 14(1) : 29-56.
- Oberdörster E, 2004. Manufactured Nanomaterials (Fullerenes, C₆₀) Induce Oxidative Stress in the Brain of Juvenile Largemouth Bass. *Environmental Health Perspectives* 112 (10) : 1058-1062.
- 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) : 437-45.
- Oberdörster G, 2005a. Inhaled Nano-sized Particles: Potential effects and Mechanisms. Compte-rendu du First International Symposium on Occupational Health Implications of Nanomaterials, 12 au 14 octobre 2004, Buxton, Grande-Bretagne, p 35-46. Édité par le Health and Safety Executive Grande-Bretagne et le National Institute for Occupational Safety and Health, États-Unis, juillet 2005 et disponible sur http://www.hsl.gov.uk/capabilities/nanosymrep_final.pdf.
- Oberdörster G, Oberdörster E, Oberdörster J, 2005b. Nanotoxicology: An Emerging Discipline Evolving from Studies of Ultrafine Particles, *Environmental Health Perspectives*, 113 (7) : 823-839 and Supplemental Web Sections, <http://www.ehponline.org/members/2005/7339/supplemental.pdf>.
- Oberdörster 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, 2005c. Principles for characterizing the potential human health effects from exposure to nanomaterials: elements of a screening strategy. *Particle and Fiber Toxicology* 2 : 8.
- Oberdörster G, Stone V, Donaldson K, 2007. Toxicology of nanoparticles: a historical perspective. *Nanotoxicology* : 1 (1) : 2-25.
- Ostiguy C, Malo S, Asselin P, 2003. Synthèse des connaissances scientifiques sur les risques d'atteinte à la santé suite à une exposition professionnelle au manganèse, rapport IRSST # R-339, IRSST, Montréal, 41 p.
- Ostiguy C, Asselin P, Malo S, Nadeau D, Dewals P, 2005. Prise en charge du manganisme d'origine professionnelle. Consensus d'un groupe d'experts, rapport IRSST #R-416, IRSST, Montréal, 62 p.
- Ostiguy C, Lapointe G, Trottier M, Ménard L, Cloutier Y, Boutin M, Antoun M, Normand C, 2006a. Les effets à la santé reliés aux nanoparticules, rapport IRSST # R-451, mars 2006, 48 p.
- Ostiguy C, Lapointe G, Ménard L, Cloutier Y, Trottier M, Boutin M, Antoun M, Normand C, 2006b. Les nanoparticules : connaissances actuelles sur les risques et les mesures de prévention en santé et en sécurité du travail, rapport IRSST # R-455, mars 2006, 79 p.
- Ostiguy C, Asselin P, Malo S, 2006c. The Emergence of Manganese-Related Health Problems in Quebec: An Integrated Approach to Evaluation, Diagnosis, Management and Control. *NeuroToxicology* 27 (3) : 350-356.
- Ostiguy C, Roberge B, Woods C, Soucy B, Lapointe G, Ménard L, 2008a. Les nanoparticules : connaissances actuelles sur les risques et les mesures de prévention en santé et en sécurité du travail, Seconde édition, rapport IRSST en évaluation scientifique.
- Ostiguy C, Roberge B, Ménard L, Endo CA, 2008b. Guide de bonnes pratiques favorisant la gestion des risques reliés aux nanoparticules de synthèse. Guide IRSST en évaluation scientifique.
-

- Paciotti GF, Myer L, Weinreich D, Goia D, Pavel N, McLaughlin RE, Tamarkin L, 2004. Colloidal gold: a novel nanoparticle vector for tumor directed drug delivery. *Drug Deliv* 11 (3) : 169-83.
- Panessa-Warren BJ, Warren JB, Wong SS, Misewich JA, 2006. Biological cellular response to carbon nanoparticle toxicity. *J Phys : Condens Matter* 18 : S2185-S2201.
- Pantarotto D, Briand JP, Prato M, Bianco A, 2004. Translocation of bioactive peptides across cell membranes by carbon nanotubes. *Chem Comm* 16-17.
- Pekkanen J, Peters A, Hoek G, Tiittanen P, Brunekreff B, de Hartog J, *et al.*, 2002. 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* 106 : 933-938.
- Penttinen P, Timonen KL, Tiittanen P, Mirme A, Ruuskanen J, Pekkanene J, 2001. Ultrafine particles in urban air and respiratory health among adult asthmatics. *Eur Resp J* 17 (3) : 428-435.
- Peters A, Wichmann HE, Tuch T, Heinrich J, Heyder J, 1997. Respiratory effects are associated with the number of ultrafine particles. *Am Resp Crit Care Med* 155 : 1376-1383.
- Peters A, Dockery DW, Muller JE, Mittleman MA, 2001. Increased particulate air pollution and the triggering of myocardial infarction. *Circulation* 103 : 2810-2815.
- Peters K, Unger RE, Kirkpatrick CJ, Gatti AM, Monari E, 2004. Effects of nano-scaled particles on endothelial cell function in vitro: studies on viability, proliferation and inflammation. *J Mater Sci Mater Med* 15 (4) : 321-5.
- Peters A, 2005. Particulate matter and heart disease: evidence from epidemiological studies. *Toxicology and Applied Pharmacology* 207 : S477-S482
- Pietropaoli AP, Frampton MW, Hyde RW, Morrow PE, Oberdorster G, Cox C, Soeurs DM, Frasier LM, Chalupa DC, Huang L-S, Utell MJ, 2004. Pulmonary function, diffusing capacity and inflammation in healthy and asthmatic subjects exposed to ultrafine particles. *Inhalation Toxicol* 16 (Suppl. 1) : 59-72.
- Pisanic TR, Blackwell JD, Shubayev VI, Finones RR, Jin S, 2007. Nanotoxicity of iron oxide nanoparticle internalization in growing neurons, *Biomaterials* 28 : 2572-2581.
- Poon VK, Burd A, 2004. In vitro cytotoxicity of silver: implication for clinical wound care. *Burns* 30 (2) : 140-7.
- Pope CA III, Burnett RT, Thurston GD, Thun MJ, Calle EE, Krewski D, Godleski JJ, 2004. Cardiovascular mortality and long-term exposure to particulate air pollution : epidemiological evidence of general pathophysiological pathways of disease. *Circulation* 109 : 71-77.
- Porter AE, Muller K, Skepper J, Midgley P, Welland M, 2006. Uptake of C₆₀ by human monocyte macrophages, its localization and implications for toxicity: studied by high resolution electron microscopy and electron tomography. *Acta Biomaterialia* 2 : 409-419.
- Potapovich A, Osipov AN, Kisin ER, Schwegler BD, Shvedova AA, Kagan VE, 2005. Single-walled carbon nanotubes activate raw 264.7 macrophages: role in oxidative stress and inflammatory response. *Toxicologist* 84 (Suppl. 1) : 468.
- Powell MC, Kanarek MS, 2006. Nanomaterial Health Effects – Part 1: Background and Current Knowledge. *Wisconsin Medical Journal*, 105 (2) : 16-20.
- Pulskamp K, Diabate S, Krug HF, 2007. Carbon nanotubes show no sign of acute toxicity but induce intracellular reactive oxygen species in dependence on contaminants, *Toxicology Letter*, 168 : 58-74.
- Qingnuan L, Yan X, Xiaodong Z, Ruili L, Qiqui D, Xiaoguang S, Shaoliang C, Wenxin L, 2002. Preparation of (99m)Tc-C(60)(OH)(x) and its biodistribution studies. *Nucl Med Biol* 29 : 707.
- Rahman Q, Lohani M, Dopp E, Pemsel H, Jonas L, Weiss DG, Schiffmann D, 2002. Evidence That Ultrafine Titanium Dioxide Induces Micronuclei and Apoptosis in Syrian Hamster Embryo Fibroblasts. *Environmental Health Perspectives*, 110 (8) : 797-800.
-

- Raja PMV, Connolley J, Ganesan GP, Ci L, Ajayan PM, Nalamasu O, Thompson DM, 2007. Impact of carbon nanotube exposure, dosage and aggregation on smooth muscle cells, *Toxicology Letters*, 169 : 51-63.
- Rajagopalan P, Wudl F, Schinazi RF, Boudinot FD, 1996. Pharmacokinetics of a water-soluble fullerene in rats. *Antimicrob Agents Chemother* 40 (10) : 2262-5.
- Raloff J, 2005. Nano Hazards: Exposure to minute particles harms lungs, circulatory system. *Science News* 167 (12) : 179.
- Renwick LC, Donaldson K, Clouter A, 2001. Impairment of Alveolar Macrophage Phagocytosis by Ultrafine Particles. *Toxicol Appl Pharm* 172 (2) : 119-127.
- Robertson JM, Ingalls TH, 1989. A Case-Control Study of Circulatory, Malignant, and Respiratory Morbidity in Carbon Black Workers in the United States, *Am Ind Hyg Assoc J* 50(10) : 510-515.
- Royal Society & Royal Academy of Engineering, 2004. Nanoscience and Nanotechnologies: opportunities and uncertainties. Juillet 2004. The Royal Society, Grande-Bretagne, 116 p.
- Ryan JJ, Bateman HR, Stover A, Gomez G, Norton SK, Zhao W, Schwartz LB, Lenk R, Kepley CL, 2007. Fullerene nanomaetriaals inhibit the allergic response. *J Immun* 179 (1) : 665-672.
- Ryman-Rasmussen JP, Riviere JE, Monteiro-Riviere NA, 2006. Penetration of Intact Skin by Quantum Dots with Diverse Physicochemical Properties, *Toxicological Sciences* 91 (1) : 159-165.
- Salvador-Morales C, Flahaut E, Sim E, Sloan J, Green MLH, Sim RB, 2006. Complement activation and protein adsorption by carbon nanotubes. *Molecular Immunology*, 43 : 193-201.
- Sakuma S, Sudo R, Suzuki N, Kikuchi H, Takamori H, Sato T, Minamitake Y, Hayashi Y, Sugita O, Hiwatari K, Kishida A, Akashi M, 2002. Behavior of Mucoadhesive Nanoparticles Having Hydrophilic Polymeric Chains in the Intestinal Membrane, *J Control Rel* 81 : 281-290.
- Salehi F, 2005. Neurotoxicity and neurobehavioral effects of manganese phosphate/sulfate mixture in male Sprague-Dawley rats following subchronic inhalation exposure. Thèse de doctorat, Université de Montréal, Montréal.
- Samet JM, Dominici F, Curriero FC, Coursac I, Zeger SL 2000. Fine particulate air pollution and mortality in 20 US cities, 1987-1994. *N Engl J Med* 343 : 1742-1749.
- Sayes CM, Fortner JD, Guo W, Lyon D, Boyd AM, Ausman KD, Tao YJ, Sitharaman B, Wilson LJ, Hugues JB, West JL, Colvin VL, 2004. The Differential Cytotoxicity of Water-Soluble Fullerenes, *Nano Letters*, 4 (10) : 1881-1887.
- Sayes CM, Gobin AM, Ausman KD, Mendez J, West JL, Colvin VL, 2005. Nano-C₆₀ cytotoxicity is due to lipid peroxidation. *Biomaterials*, 25 : 7587-7595.
- Sayes CM, Liang F, Hudson JL, Mendez J, Guo W, Beach JM, Moore VC, Doyle CD, West JL, Billups WE, Ausman KD, Colvin VL, 2006a. Functionalization Density Dependence of Single-Walled Carbon Nanotubes Cytotoxicity in Vitro, *Toxicology Letters*, 161 : 135-142.
- Sayes CM, Wahi R, Kurian PA, Liu Y, West JL, Ausman KD, Warheit DB, Colvin VL, 2006b. Correlating nanoscale titania structure with toxicity : a cytotoxicity and inflammatory response study with human dermal fibroblasts and human lung epithelial cells, *Toxicological Sciences*, 92(1) : 174-185.
- Sayes CM, Marchione AA, Reed KL, Warheit DB, 2007a. Comparative pulmonary toxicity assessments of C₆₀ water suspensions in rats: few differences in fullerene toxicity in vivo in contrast to in vitro profiles. *Nano Letters* 7 (8) : 2399-2406.
- Sayes CM, ReedKL, Warheit DB, 2007b. Assessing toxicity of fine and nanoparticles: comparing in vitro measurements to in vivo pulmonary toxicity profiles. *Tox Sci* 91 (7) : 163-180.
- Schiller CF, Gebhart J, Heyder J, Rudolf G, Stahlhofen W, 1988. Deposition of monodisperse insoluble aerosol particles in the 0.0005 to 0.2 µm size range within the human respiratory tract. *Ann Occup Hyg* 32 (suppl 1) : 41-49.
-

- Schulz J, Hohenberg H, Pflucker F, Gartner E, Will T, Pfeiffer S, Wepf R, Wendel V, Gers-Barlag H, Wittern KP, 2002. Distribution of sunscreens on skin. *Adv Drug Deliv Rev* 54 (Suppl 1) : S157-63.
- Schwartz J, 1994. Air pollution and daily mortality: a review and meta. analysis. *Environ Res* 64 : 36-52.
- Schwartz J, Morris R, 1995. Air Pollution and Hospital Admissions for Cardiovascular Disease in Detroit, Michigan. *Am J Epidemiol* 142 : 23-35.
- Seaton A, MacNee W, Donaldson K, Godden D. 1995. Particulate air pollution and acute health effects. *Lancet* 345 : 176-178.
- Seaton A, Donaldson K, 2005. Nanoscience, nanotoxicology, and the need to think small. *The Lancet* 365 : 923-924.
- Semmler-Behnke M, Takenaka S, Fersch S, Wenk A, Seitz J, Mayer O, Oberdorster G, Kreyling WG, 2007. Efficient elimination of inhaled nanoparticles from the alveolar region: evidence for interstitial uptake and subsequent reentrainment onto airways epithelium. *Environ Health Persp* 115 (5) : 728-733.
- Sera N, Tokiwa H, Miyata N, 1996. Mutagenicity of the fullerene C₆₀-generated singlet oxygen dependent formation of lipid peroxides. *Carcinogenesis* 17 (10) : 2163-9.
- Service du répertoire toxicologique, 2005. Béryllium. CSST – Service du répertoire toxicologique, Montréal, <http://www.reptox.csst.qc.ca/Documents/PlusEncore/bibliographies/HTM/Beryllium.htm>.
- Shimada A, Kawamura N, Okajima M, Kaewamatawong T, Inoue H, Morita T, 2007. Translocation pathway of intratracheally instilled ultrafine particles from the lung into blood circulation in the mouse, *Toxicologic Pathology*, 34 : 949-957.
- Shiohara A, Hoshino A, Hanaki K, Suzuki K, Yamamoto K, 2004. On the cytotoxicity caused by quantum dots. *Microbiol Immunol* 48 (9) : 669-75.
- Shvedova AA, Castranova V, Kisin E, Schwegler-Berry D, Murray AR, Gandelsman VZ, Maynard A, Baron P, 2003. Exposure to carbon nanotube material: assessment of nanotube cytotoxicity using human keratinocyte cells. *J Toxicol Environ Health A* 66 : 1909-1926.
- Shvedova AA, Kisin E, Keshava N, Murray AR, Gorelik O, Arepalli S, Gandelsman VZ, Castranova V, 2004a. Cytotoxic and genotoxic effects of single wall carbon nanotube exposure on human keratinocytes and bronchial epithelial cells [Abstract]. In: 227th American Chemical Society National Meeting, 27 March-1 April 2004, Anaheim, CA. Washington, DC: American Chemical Society, IEC 20.
- Shvedova AA, Kisin E, Murray AR, Schwegler-Berry D, Gandelsman VZ, Baron P *et al.*, 2004b. Exposure of human bronchial cells to carbon nanotubes caused oxidative stress and cytotoxicity. In: Proceedings of the Meeting of the SFRR Europe 2003, Ioannina, Grèce, 91-103.
- 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, 2005. Unusual inflammatory and fibrogenic pulmonary responses to single-walled carbon nanotubes in mice, *American Journal of Physiology – Lung Cellular and Molecular Physiology*, 289 : 698-708.
- Smith RG, Musch DC, 1982. Occupational Exposure to Carbon Black: a Particulate Sampling Study. *American Industrial Hygiene Association Journal*, 43 (12) : 925-930.
- Smith AM, Gao X, Nie S, 2004. Quantum-Dot Nanocrystals for In-vivo Molecular and Cellular Imaging. *Photochem Photobiol* 80 : 377-385.
- Soto KF, Carrasco A, Powell TG, Garza KM, Murr LE, 2005. Comparative *in vitro* cytotoxicity assessment of some manufactured nanoparticulate materials characterized by transmission electron microscopy. *Journal of Nanoparticle Research* 7: 145-169.
- Stoeger T, Reinhard C, Takenaka S, Schroepel A, Karg E, Ritter B, Heyder J, Schulz H, 2006. Instillation of six different ultrafine carbon particles indicates a surface area threshold dose for acute lung inflammation in mice, *Environmental Health Perspectives*, 114 (3) : 328-333.
-

Stone V, Tuinman M, Vamvakopoulos JE, Shaw J, Brown D, Petterson S, Faux SP, Borm P, MacNee W, Michaelangeli F, Donaldson K, 2000. Increased calcium influx in a monocytic cell line on exposure to ultrafine carbon black. *European Respiratory Journal*, 15 : 297-303.

Swiss Engineering, 2006. Déceler les risques des nanoparticules. Revue Technique Suisse RTS. <http://www.swissengineering-stz.ch/pdf/rts001656.pdf>.

Sydlik U, Bierhals K, Soufi M, Abel J, Schins RPF, Unfried K, 2006. Ultrafine carbon particles induce apoptosis and proliferation in rat lung epithelial cells via specific signalling pathways both using EGF-R, *American journal of physiology. Lung cellular and molecular physiology* 291 : 725-733.

Tabata Y, Ikada Y, 1988. Effect of the size and surface charge of polymer microspheres on their phagocytosis by macrophages. *Biomaterials* 9 : 356-362.

Thrall L, 2006. Study links TiO₂ nanoparticles with potential for brain-cell damage. *Environmental Science and Technology online*, 7 juin 2006. http://pubs.acs.org/subscribe/journals/esthag-w/2006/jun/tech/lt_nanoparticles.html.

Tinkle SS, Antonini JM, Rich BA, Roberts JR, Salmen R, DePree K, Adkins EJ, 2003. Skin as a Route of Exposure and Sensitization in Chronic Beryllium Disease. *Environmental Health Perspectives* 111 (9) : 1202-1208.

Tiwari SB, Shenoy DB, Amiji MM, 2006. A review of nanocarrier-based CNS delivery systems. *Current Drug Delivery* 3 : 219-232.

Tjälve H, Henriksson J, 1999. Uptake of metals in the brain via olfactory pathways. *NeuroToxicology* 20 (2-3) : 181-196.

Tkachenko AG, Xie H, Liu Y, Coleman D, Ryan J, Glomm WR, Shipton MK, Franzen S, Feldheim DL, 2004. Cellular trajectories of peptide-modified gold particle complexes: comparison of nuclear localization signals and peptide transduction domains. *Bioconjug Chem* 15 (3) : 482-90.

Tomazic-Jezic VJ, Umbreit TH, Stratmeyer ME, 2006. Evaluation of Nanomaterials' Immunotoxicity: Example of Polystyrene Nanoparticles. 12th Annual FDA Science Forum. http://www.accessdata.fda.gov/scripts/oc/scienceforum/sf2006/search/preview.cfm?keyword=Tomazic-Jezic&abstract_id=779&type=coauthor&backto=search.

Torres-Lugo M, Garcia M, Record R, Peppas NA, 2002. Physicochemical behavior and cytotoxic effects of p(methacrylic acid-g-ethylene glycol) nanospheres for oral delivery of proteins. *J Control Release* 80 (1-3) : 197-205.

Tsuchiya T, Oguri I, Nakajima Yamakoshi YN, Miyata N, 1996. Novel harmful effects of [60] fullerene on mouse embryos in vitro and in vivo. *FEBS Lett* 393 : 139-145.

United States Environmental Protection Agency/Science Policy Council, 2005. Nanotechnology White Paper – External Review Draft, Washington D.C., December 2, 2005, 134 p. http://www.epa.gov/OSA/pdfs/EPA_nanotechnology_white_paper_external_review_draft_12-02-2005.pdf

Utell MJ, Frampton MW. 2000. Acute health effects of ambient air pollution: the ultrafine particle hypothesis. *J Aerosol Med* 13 : 355–359.

Wagner A, Bleckmann C, England E, Hess K, Hussain S, Schlager JJ, 2001. In Vitro Toxicity of Aluminum Nanoparticles in Rat Alveolar Macrophages. Air Force Research Laboratory, Human Effectiveness Directorate, Wright-Patterson AFB, OH USA. <http://handle.dtic.mil/100.2/ADA445568>.

Wallace WE, Kaene MJ, Murray DK, Chisholm WP, 2007. Phospholipid lung surfactant and nanoparticle surface toxicity: Lessons from diesel soots and silicate dust. In Nanoparticles and Occupational Health, Édité par Maynard AD et Pui DYH, Springer, *Journal of Nanoparticle Research* 9 : 23-38.

Wang H, Wang J, Deng X, Sun H, Shi Z, Gu Z, Liu Y, Zhao Y, 2004. Biodistribution of carbon single-wall carbon nanotubes in mice. *J Nanosci Nanotech* 4 (8) : 1019-1024.

Wang B, Feng W, Zhao Y, Xing G, Chai Z, Wang H, Jia G, 2005. Status of study on biological and toxicological effects of nanoscale materials. *Science in China Ser. B Chemistry* 48 (5) : 385-394.

- Wang B, Feng W-Y, Wang T-C, Jia G, Wang M, Shi J-W, Zhang F, Zhao Y-L, Chai Z-F, 2006. Acute toxicity of nano- and micro-scale zinc powder in healthy adult mice. *Toxicology Letters* 161 : 115-123.
- Warheit DB, 2004. Nanoparticles: health impacts ? *Materials today* 7 (2) : 32-35.
http://www.materialstoday.com/pdfs_7_2/warheit.pdf.
- Warheit DB, Laurence BR, Reed KL, Roach DH, Reynolds GAM, Webb TR, 2004. Comparative pulmonary toxicity assessment of single-wall carbon nanotubes in rats. *Tox Sci* 77 : 117-125.
- Warheit DB, Laurence BR, Reed KL, Roach DH, Reynolds GAM, Webb TR, 2005. Pulmonary bioassay Toxicity Study in rats with single wall carbon nanotubes. Compte-rendu du First International Symposium on Occupational Health Implications of Nanomaterials, 12 au 14 octobre 2004, p 59-64. Buxton, Grande-Bretagne, édité par le Health and Safety Executive Grande-Bretagne et le National Institute for Occupational Safety and Health, États-Unis, juillet 2005 et disponible sur :
http://www.hsl.gov.uk/capabilities/nanosymrep_final.pdf.
- Warheit DB, 2006. Effects of engineered nanoscale particulates on the lung. In *Toxicology of the lung*, 4th Edition, édité par DE Gardner, p 537-557.
- Warheit DB, Webb TR, Sayes CM, Colvin V, Reed K, 2006. Pulmonary Instillation Studies with Nanoscale TiO₂ Rods and Dots in Rats: Toxicity is not Dependent Upon Particle Size and Surface Area, *Toxicological Sciences*, 91 (1) : 227-236.
- Warheit DB, Webb TR, Reeda KL, Frerichs S, Sayes CM, 2007a. Pulmonary toxicity study in rats with three forms of ultrafine-TiO₂ particles: differential responses related to surface properties, *Toxicology*, 230 : 90-104.
- Warheit DB, Webb TR, Colvin VL, Reed KL, Sayes CM, 2007b. Pulmonary bioassay studies with nanoscale and fine-quartz particles in rats: toxicity is not dependent upon particle size but on surface characteristics, *Toxicological Sciences* 95 (1) : 270-280.
- WarheitDB, Borm PJA, Hennes C, Laderman J, 2007c. Testing strategies to establish the safety of nanomaterials: conclusions of an ECETOX workshop. *Inhal Tox* 19 (8) : 631-643.
- Watson AY, Valberg PA, 2001. Carbon Black and Soot: Two Different Substances, *Amer Ind Hyg Ass J* 62: 218-228.
- Wichmann HE, Spix C, Tuch T, Wölke G, Peters A, Heinrich H, Kreyling WG, Heyder J, 2000. Daily mortality and fine and ultrafine particles in Erfurt, Germany. Part 1: role of particle number and particle mass. HEI Research Report # 98 : Health Effects Institute, Boston, Ma.
- Wichmann HE, 2003a. What can we learn today from the central european smog episode of 1985 (and earlier episodes)? *Int J Hyg Environ Health* 206 : 505-520.
- Wichmann HE, 2003b. Epidemiology of ultrafine particles. BIA Report 7/2003e, p 59-92.
- Wick P, Manser P, Limbach LK, Dettlaff-Weglikowska U, Krumeich F, Roth S, Stark WJ, Bruinink A, 2007. The degree and kind of agglomeration affect carbon nanotube cytotoxicity, *Toxicology Letters* 168 : 121-131.
- Wittmaack K, 2007. In search of the most relevant parameter for quantifying lung inflammatory response to nanoparticle exposure: particle number, surface area or what?. *Environ Health Perspec* 115 (2) : 187-194.
- Witschger O, Fabriès JF, 2005. Particules ultra-fines et santé au travail 1- caractéristiques et effets potentiels sur la santé, INRS – Hygiène et sécurité du travail – Cahiers de notes documentaires – 2^e trimestre 2005, 199 : 21-35.
- Won Kang J, Jung Hwang H, 2004. Comparison of C₆₀ encapsulations into carbon and boron nitride nanotubes. *Condens Matter* 16 : 3901-3908.
- Wootliff B, 2004. British scientist : Nanoparticles might move from mom to fetus. *Smalltimes* 14 janvier 2004. http://www.smalltimes.com/print_doc.cfm?doc_id=7223.
-

- Yamamoto S, Tin-Tin-Win-Shwe, Ahmed S, Kobayashi T, Fujimaki H, 2006. Effect of ultrafine carbon black particles on lipoteichoic acid-induced early pulmonary inflammation in BALB/c mice, *Toxicology and Applied Pharmacology*, 213 : 256-266.
- Yang XL, Fan CH, Zhu HS, 2002. Photo-induced cytotoxicity of malonic acid [C₆₀]fullerene derivatives and its mechanism. *Toxicol in vitro* 16 : 41-46.
- Yokoyama A, Sato Y, Nodasaka Y, Yamamoto S, Kawasaki T, Shindoh M, Kohgo T, Akasaka T, Uo M, Watari F, Tohji K, 2005. Biological behavior of hat-stacked carbon nanofibers in the subcutaneous tissue in rats. *Nano letters* 5 (1) : 157-161.
- Zakharenko LP *et al*, 1997. [Determination of the genotoxicity of fullerene C₆₀ and fullerol using the method of somatic mosaics on cells of Drosophila melanogaster wing and SOS-chromotest] *Genetika* 33 (3) : 405-9 [Article en Russe].
- Zhang Q, Kusaka Y, Donaldson K, 2000. Comparative pulmonary responses caused by exposure to standard cobalt and ultrafine cobalt. *J Occup Health* 42 : 179-184.
- Zhang Q, Kusada Y, Zhu X, Sato K, Mo Y, Kluz T, Donaldson K, 2003. Comparative toxicity of standard nickel and ultrafine nickel in lung after intratracheal instillation. *J Occup Health* 45 : 23-30.
- Zhang J, Wang H, Yan X, Zhang L, 2005a. Comparison of short-term toxicity between Nano-Se and selenite in mice. *Life Sci* 76 (10) : 1099-1109.
- Zhang Z, Kleinstreuer C, Donohue JF, Kim CS, 2005b. Comparison of micro- and nano-size particle depositions in a human upper airway model. *J Aerosol Sci* 36 (2) : 211-233.
- Zheng M, Jagota A, Strano M, Santos A, Barone P, 2003. Structure-Based Carbon Nanotube Sorting by Sequence-Dependent DNA Assembly, *Science* 302 : 1545-1548.
- Zhao Y, Meng H, Chen Z, Zhao F, Chai Z, 2007a. "Biological Activities of Nanomaterials/ Nanoparticles", In "Nanotoxicology, Interactions of Nanomaterials with Biological Systems", Édité par Zhao Y et Nalwa, American Scientific Publishers, 2007, p 1-28.
- Zhao Y, Zhao F, Chen Z, Meng H, Chai Z, 2007b. "Methodology for Nanotoxicology", In "Nanotoxicology, Interactions of Nanomaterials with Biological Systems", Édité par Zhao Y et Nalwa, American Scientific Publishers, 2007, 300 p.
- Zhao Y, Nalwa HS, 2007c. Nanotoxicology, Interactions of Nanomaterials with Biological Systems, American Scientific Publishers, 2007, 300 p.
- Zhou YM, Zhong CY, Kennedy IM, Leppert VJ, Pinkerton KE, 2003. Oxidative stress and NFkappaB activation in the lungs of rats: a synergistic interaction between soot and iron particles. *Toxicol Appl Pharmacol* 190 : 157-169.
- Zhou J, Zeng FQ, Li C, Tong QS, Gao X, Xie SS, Yu LZ, 2005. Preparation of arsenic trioxide-loaded albuminates immuno-nanospheres and its specific killing effect on bladder cancer cell in vitro. *Chin Med J (Engl)* 118 (1) : 50-5.
- Zimmer A, 1999. Antisense oligonucleotide delivery with polyhexylcyanoacrylate nanoparticles as carriers. *Methods in Enzymology* 18 : 286-295.
-