



FORUM 2018
LES RISQUES EMERGENTS

Nanomatériaux et impact sur la santé

Un point sur les connaissances actuelles

Anna Bencsik

Directeur de Recherche, Anses, Lyon

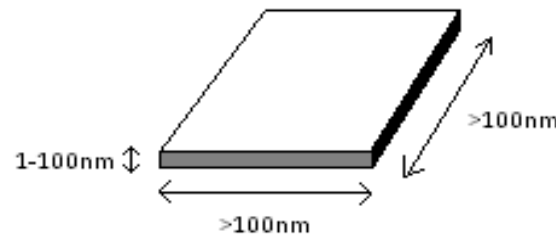
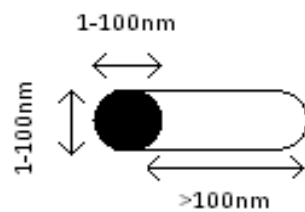
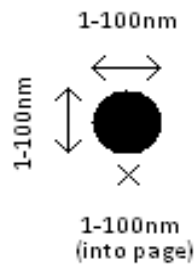
Définitions



COMMISSION EUROPÉENNE, OCTOBRE 2011 : Recommandations

2011/696/UE

« on entend par **nanomatériau** un matériau naturel, formé accidentellement ou manufacturé contenant des particules libres, sous forme d'agrégat ou d'agglomérat, dont au moins 50 % des particules, dans la répartition numérique par taille, présentent une ou plusieurs dimensions externes se situant entre 1 nm et 100 nm ».



RECOMMANDATIONS

RECOMMANDATION DE LA COMMISSION

du 18 octobre 2011

relative à la définition des nanomatériaux

(Texte présentant de l'intérêt pour l'EEE)

(2011/696/UE)

LA COMMISSION EUROPÉENNE,

vu le traité sur le fonctionnement de l'Union européenne, et notamment son article 292,

considérant ce qui suit:

(1) La communication de la Commission du 7 juin 2005 intitulée «Nanosciences et nanotechnologies: un plan d'action pour l'Europe 2005-2009»⁽¹⁾ définit une série d'actions articulées et interconnectées en vue de la mise en œuvre immédiate d'une stratégie des nanosciences et des nanotechnologies sûre, intégrée et responsable.

(2) La Commission, conformément aux engagements qu'elle a pris dans le plan d'action, a soigneusement passé en revue la législation de l'Union en la matière afin de déterminer l'applicabilité des dispositions existantes aux risques potentiels des nanomatériaux. Les conclusions de cette étude ont été publiées dans la communication de la Commission du 17 juin 2008 intitulée «Aspects réglementaires des nanomatériaux»⁽²⁾. Cette communication établit que le terme «nanomatériaux» n'est spécifiquement mentionné dans aucun texte législatif de l'Union, mais que la législation en vigueur couvre en principe les risques potentiels des nanomatériaux pour la santé, la sécurité et l'environnement.

(3) Dans sa résolution du 24 avril 2009 sur les aspects réglementaires des nanomatériaux⁽³⁾, le Parlement européen préconise entre autres l'introduction d'une définition scientifique exhaustive des nanomatériaux dans la législation de l'Union.

(4) La définition visée dans cette recommandation devrait servir de référence pour déterminer si un matériau doit être considéré comme un «nanomatériau» aux fins de la législation et des politiques de l'Union. Il convient que la définition du terme «nanomatériau» dans la législation de l'Union se fonde uniquement sur la taille des particules constitutives du matériau, à l'exclusion de toute considération relative aux risques ou aux dangers qu'il peut présenter. Cette définition, fondée exclusivement sur la taille du matériau, couvrirait les matériaux naturels, formés accidentellement ou manufacturés.

(5) Il convient que la définition du terme «nanomatériau» s'appuie sur les connaissances scientifiques disponibles.

(6) La mesure des tailles et de la répartition des tailles dans le cas des nanomatériaux pose fréquemment des difficultés et il n'est pas garanti que des mesures effectuées selon différentes méthodes produisent des résultats comparables. Il est nécessaire d'élaborer des méthodes de mesure harmonisées afin de faire en sorte que l'application de la définition produise des résultats cohérents à tout moment et pour tous les matériaux. En attendant de pouvoir disposer de méthodes de mesure harmonisées, il convient d'utiliser à défaut les meilleures méthodes disponibles.

(7) Le rapport de référence du Centre commun de recherche de la Commission intitulé «Considerations on a Definition of Nanomaterials for Regulatory purposes»⁽⁴⁾ suggère que la définition des nanomatériaux doit couvrir les nanomatériaux particuliers, être globalement applicable dans le cadre de la législation de l'Union et s'insérer dans la ligne des autres approches en la matière adoptées dans le monde. La taille doit être l'unique caractéristique constitutive de la définition qui nécessite d'établir clairement les limites de l'échelle nanoscopique.

(8) La Commission a mandaté le Comité scientifique des risques sanitaires émergents et nouveaux (CSRSEN) pour fournir des données scientifiques relatives aux éléments à prendre en compte dans la définition du terme «nanomatériaux» à des fins de réglementation. L'avis intitulé «Scientific basis for the definition of the term "Nanomaterial"» a été soumis à consultation publique en 2010. Dans son avis du 8 décembre 2010⁽⁵⁾, le CSRSEN a conclu que la taille est un critère universellement applicable aux nanomatériaux, qu'elle constitue la mesure la plus appropriée et que la définition d'une fourchette de tailles faciliterait l'uniformisation des interprétations en la matière. La limite inférieure proposée est de 1 nm. En ce qui concerne la limite supérieure, un consensus s'est établi dans la pratique sur 100 nm, mais on ne dispose d'aucune preuve scientifique que cette valeur est la plus adéquate. Il est possible que l'utilisation d'une limite supérieure unique soit trop restrictive aux fins de la classification des nanomatériaux et qu'il soit plus judicieux

(1) COM(2005) 243 final.
(2) COM(2008) 366 final.
(3) P6_TA(2009) 0328.

(4) EUR 24403 EN, juin 2010.
(5) http://ec.europa.eu/health/scientific_committees/emerging/docs/scenih_o_032.pdf.

Définitions ... suite



ISO/TS 229 : acronyme “NOAA” designe l’ensemble des nano-objets et de leurs agrégats et agglomérats

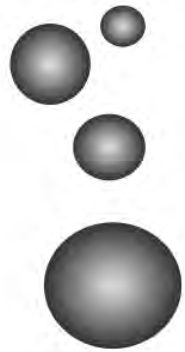


NOAA pour désigner les nano dans des textes officiels

Agrégats : particule constituée de particules primaires soudées ou fusionnées

Agglomérats : amas friable de particules ou d’agrégats dont la surface externe globale correspond à la somme des surfaces de ses constituants individuels

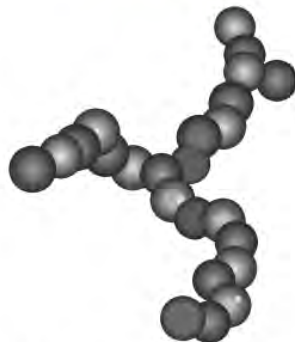
Nanoparticles



100 nm

Aggregate

Chemically bonded



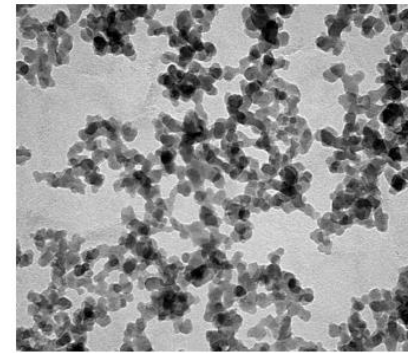
Fused, tightly bonded primary particles

Agglomerates

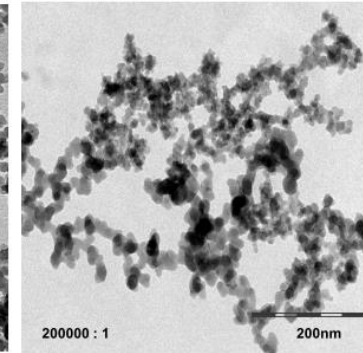
Van der Waals forces



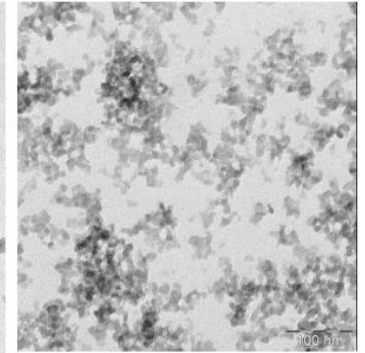
Particles or aggregates stick together



Precipitated Silica, (BET 200 m²/g)

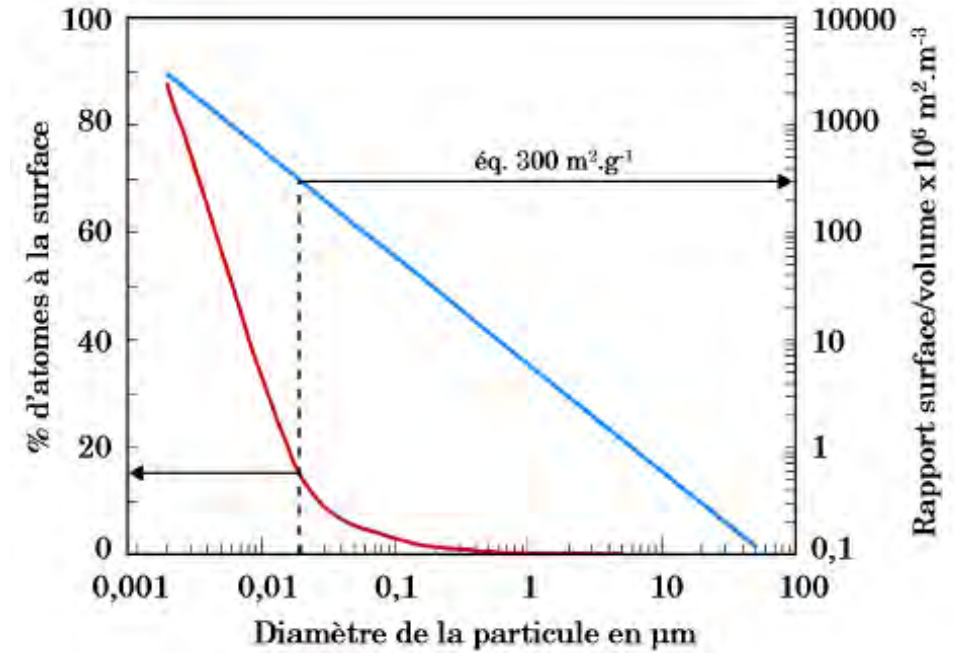
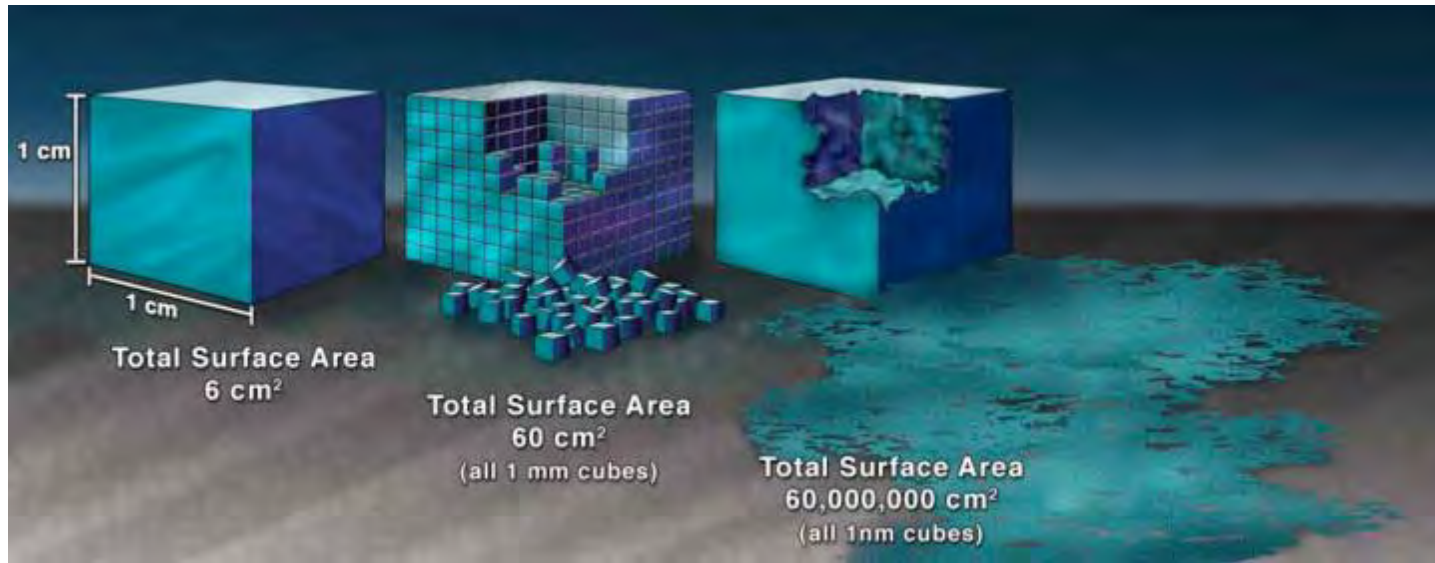


Pyrogenic (fumed) Silica, (BET 200 m²/g)



Silica Gel (BET 200 - 300 m²/g)
Source: Grace Davison

Caractéristique : une aire surfacique augmentée

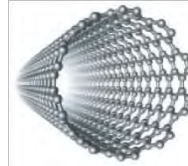


→ l'augmentation importante de la proportion d'atomes en surface provoque une augmentation de l'activité surfacique

→ A composition chimique identique, le comportement de la matière à l'échelle nanométrique est radicalement différent de celui du même composé de taille supérieure

Des propriétés nouvelles

Propriétés	Exemples
Catalytique	Efficacité catalytique élevée due au rapport surface/volume élevé
Electrique	Augmentation de la conductivité électrique des céramiques et des nanocomposites magnétiques Augmentation de la résistance électrique des métaux
Magnétique	Augmentation de la coersivité magnétique, comportement superparamagnétique
Mécanique	Augmentation de la dureté et de la solidité des métaux et des alliages, de la ductilité et de la superélasticité des céramiques
Optique	Changement spectral de l'absorption optique et des propriétés fluorescentes, augmentation de l'efficacité quantique des cristaux semi-conducteurs
Stérique	Augmentation de la sélectivité Sphères creuses pour un transport spécifique de médicaments et une distribution contrôlée
Biologique	Augmentation de la perméabilité vis-à-vis des barrières biologiques (membrane, barrière épithéliale,...), augmentation de la biocompatibilité



Le carbone dans une mine de crayon se casse facilement, sous forme de nanotube, il est 6 x plus résistant que l'acier

Le séléniure de cadmium (CdSe) est fluorescent: la couleur réémise sous UV varie en fonction de la taille (ici de 2 à 5 nm)



Nanomatériaux et risques associés



Nouvelles propriétés des NM

Risques nouveaux ou accrus ?

Technologiques



risque d'explosion de poussières

Environnementaux



contamination des sols, faune, flore

Toxicologiques



généotoxique, tumorigène...

nanomatériau :

chimiquement identique

physiquement différent

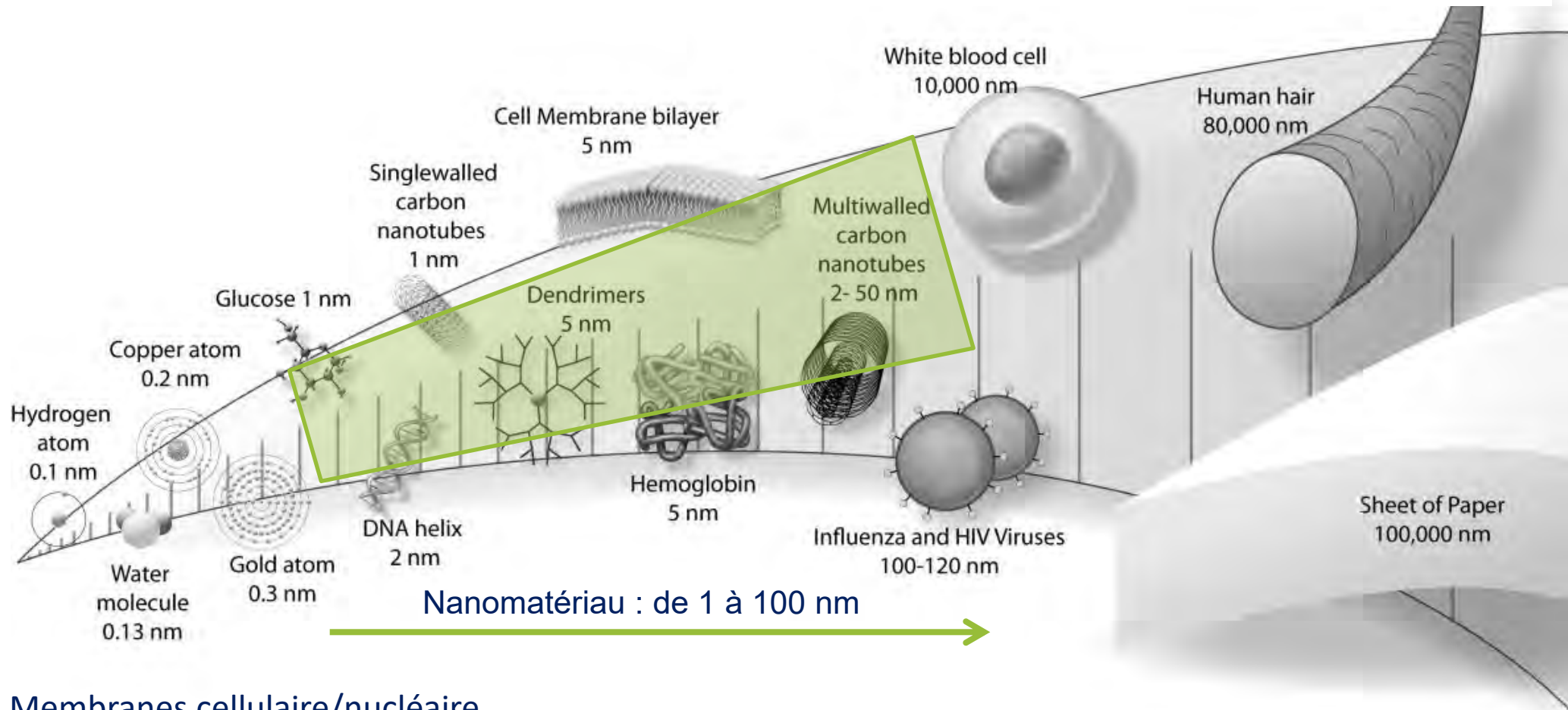


comportement biologique potentiellement différent

Les particules nanométriques sont-elles plus toxiques que celles micrométriques de même nature chimique?

Danger : les critères d'inquiétudes

Taille compatible avec le franchissement des barrières physiologiques



Membranes cellulaire/nucléaire

Possibilité d'interactions avec des composants cellulaires vitaux

Haute réactivité biologique aire surfacique très importante

Les questions toxicologiques propres aux nanomatériaux

Capacité d'entrée des nanoparticules dans les cellules

chimie de surface des nanoparticules, les NP chargées ne pénètrent pas dans les cellules de façon passive, transport actif possible

Toxicité dépendante de la cellule

toxicité des NP pourrait varier en fonction des types cellulaires

Influence de l'agrégation/agglomération

l'attraction spontanée entre les NPs conduit à la formation d'amas de taille plus importante modifiant la cinétique des NPs

Compréhension de la toxicité des NPs : quelles sont les spécificités?

quelles sont les propriétés dominantes qui influencent majoritairement leur toxicité?

Influence des interférences techniques et les contrôles positifs.

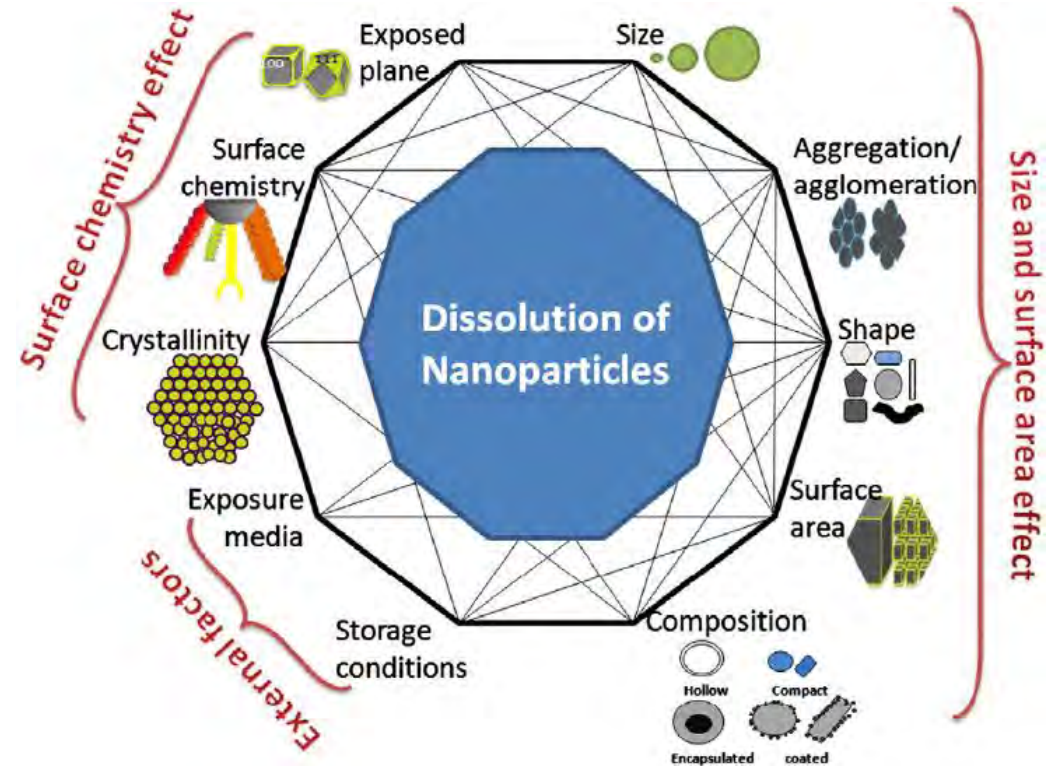
questions essentielles de base non résolues

défis : développement et sélection des tests chimiques et biochimiques appropriés

Importance des paramètres physico-chimiques

- Les activités biologiques de NM dépendent des paramètres physico-chimiques **habituellement non considérés dans les études toxicologiques:**

- l'aire de surface
- la chimie de surface
- la charge de surface
- la structure cristalline
- la forme des particules
- la composition chimique
- les distributions de taille
- l'état d'agrégation et d'agglomération
- la porosité ...



- Du fait de cette dépendance, l'étude de la toxicité des NM exige une double approche :
 - **physico-chimique**, mesurant l'impact des milieux biologiques sur les NM
 - **toxicologique**, évaluant l'impact des NM sur les biomolécules, les cellules, les organismes et les écosystèmes

Importance de la corona

La composition de cette couronne de protéine influe sur la réponse des cellules et des organes

DETERMINANTS

Nature of the physiological environment:

- blood
- interstitial fluid,
- cell cytoplasm
- etc.

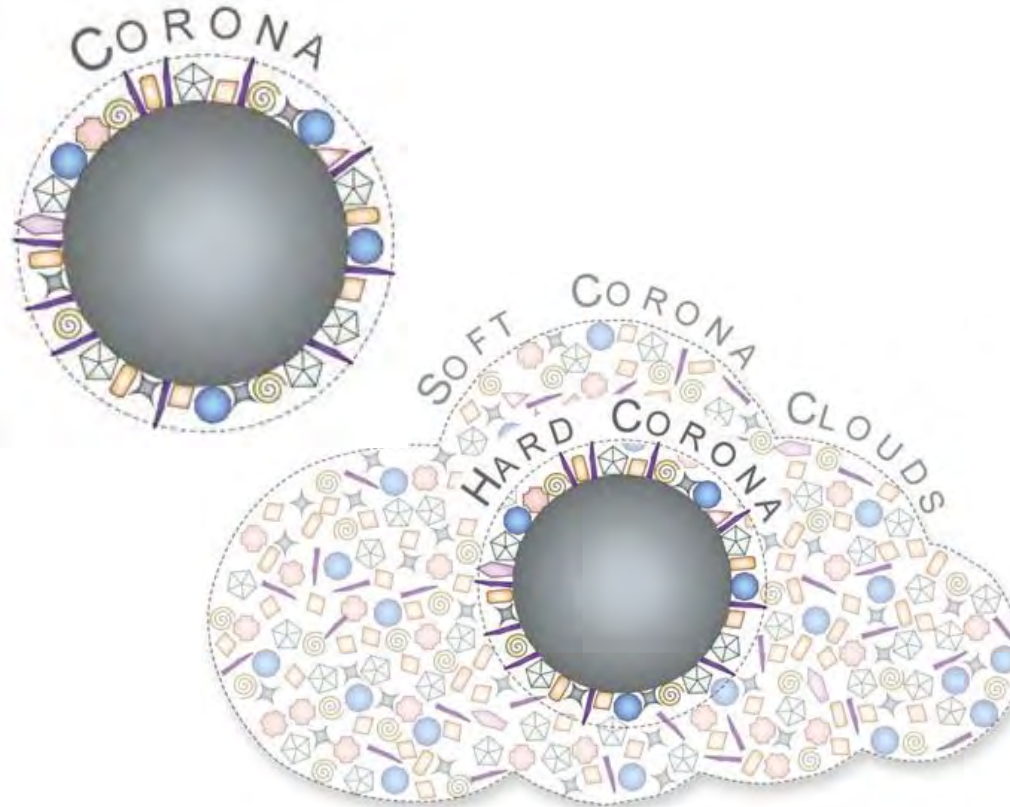
CORONA

Duration of exposure

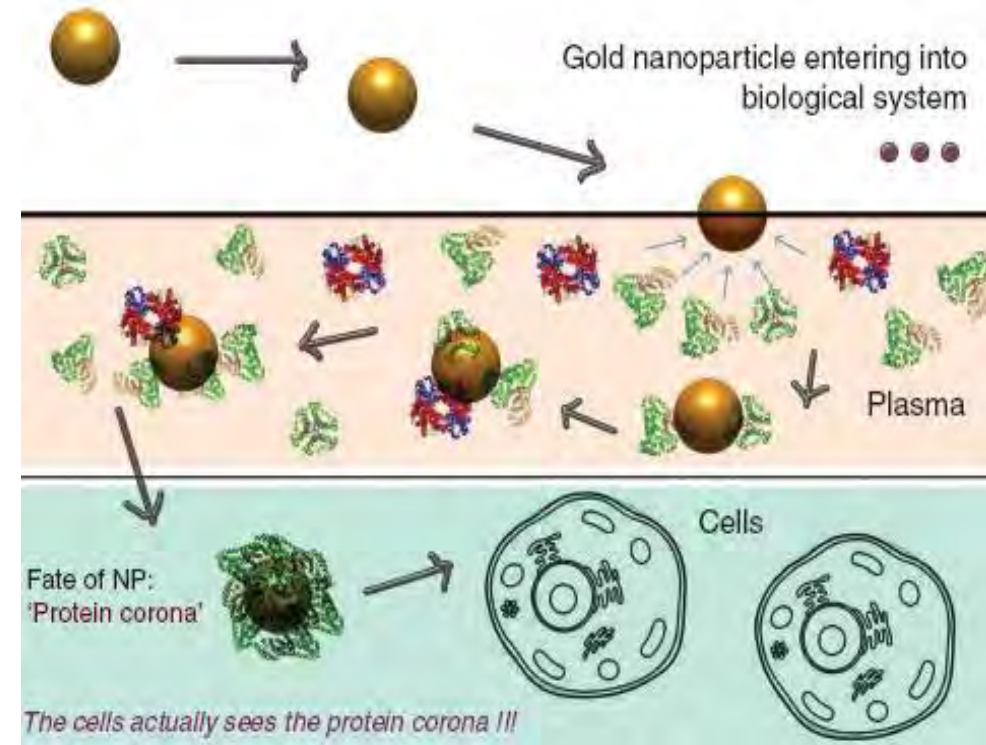
Synthetic identity of the nanomaterial:

- size
- shape
- composition

NP



Docter et al 2015



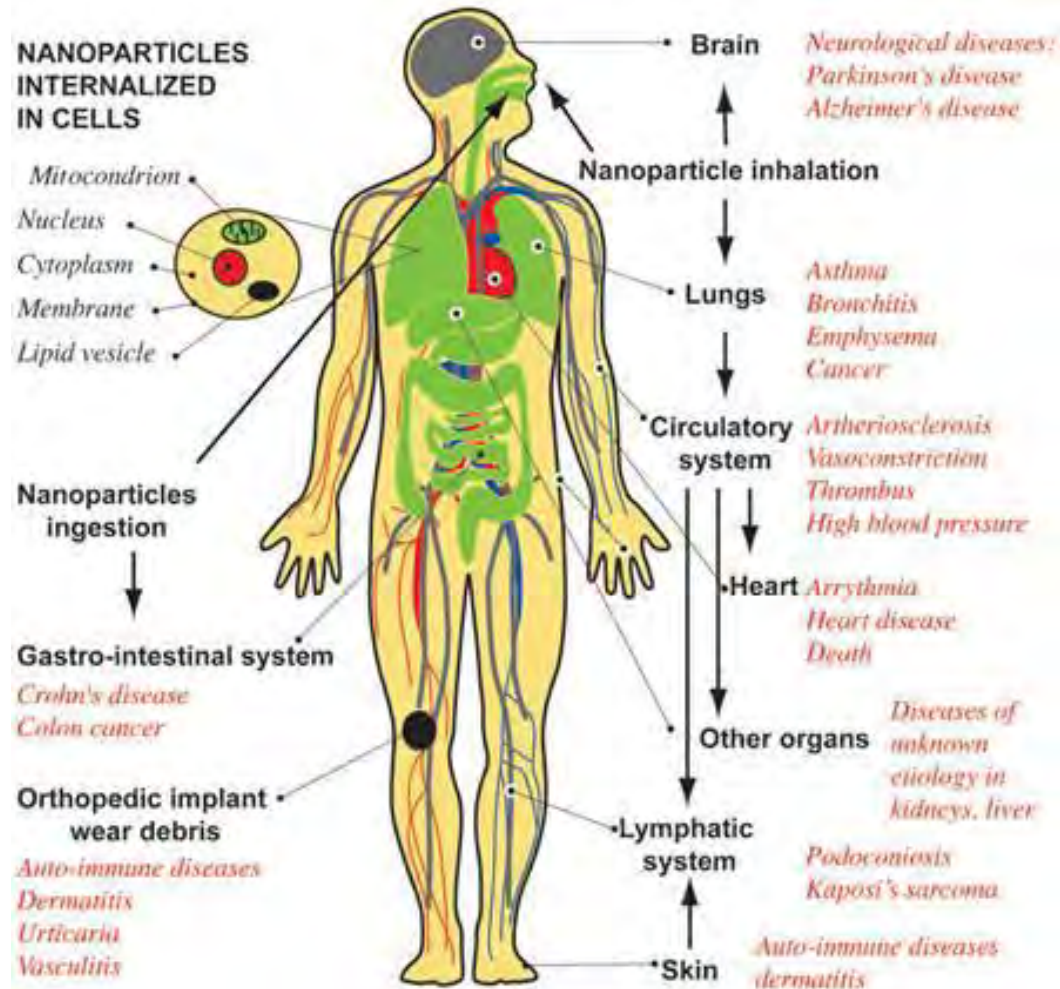
Syamantak et al 2014

Les études relatives à la formation de cette corona et son évolution sont cruciales pour la compréhension des potentialités toxicologiques des NP

Effets néfastes

Les connaissances sur la toxicité humaine sont très limitées

Les connaissances disponibles reposent sur les données expérimentales in vitro et in vivo



Sans pouvoir complètement extrapoler ces études on recense pour certaines NPs des effets:

Cardiovasculaires

Respiratoires

Cancérogènes

La voie **respiratoire**: première voie d'entrée des NPs (milieu professionnel et population générale)

Effets néfastes

Les NPs peuvent être absorbées, transportées, redistribuées dans différents organes

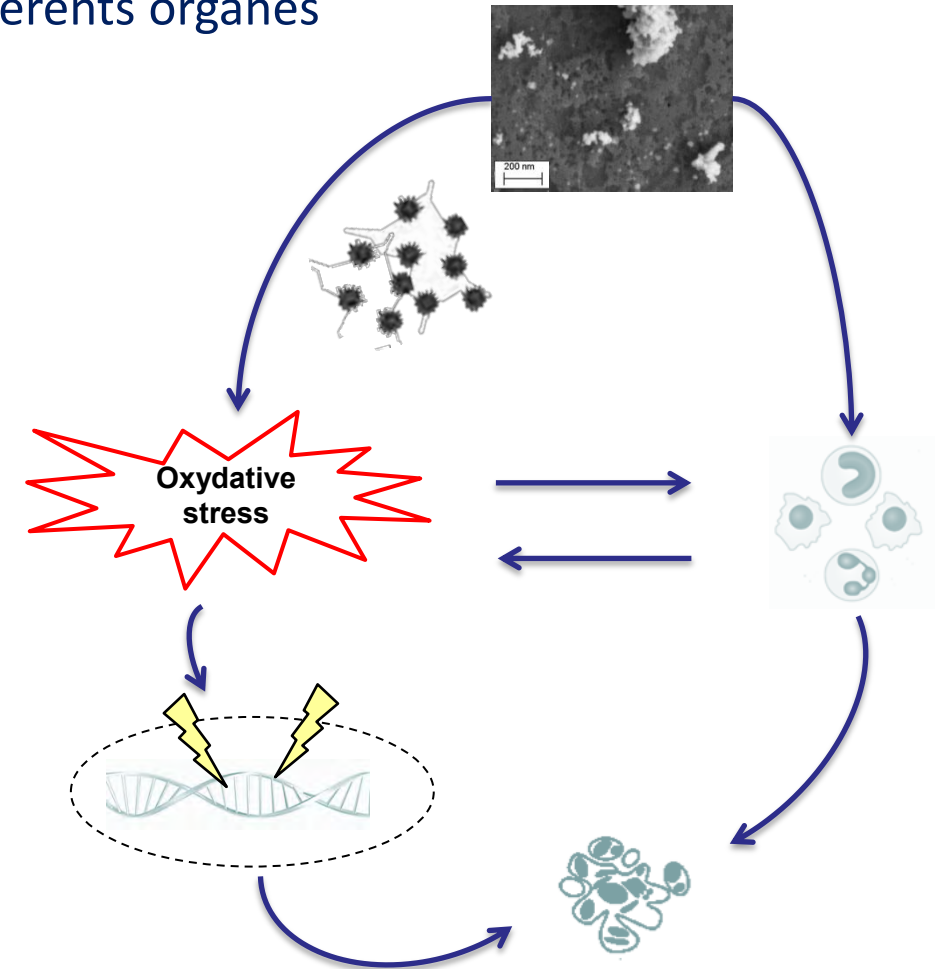
Les NPs interagissent avec les cellules et peuvent entraîner :

un processus de **stress oxydant**

de **l'inflammation**

des **dommages à l'ADN**

une mort par **apoptose**



Bencsik et al. Progress in Neurobiology 2018

Impact sanitaire : quels types d'expositions

Exposition directe

- ▶ Lors de la manipulation des NOAA pendant la production/transformation/utilisation professionnelle/traitement des déchets
 - Exposition professionnelle (plusieurs millions de travailleurs)
Essentiellement par la voie d'inhalation et par la voie du nerf olfactif
 - Mais aussi par contamination cutanée avec ou sans le passage transcutané
- ▶ Lors de la consommation des produits contenant des NOAA
 - Exposition générale en constante augmentation
 - Essentiellement par la voie digestive (ingestion) et cutanée



Exposition environnementale indirecte

- (respiratoire, digestive et cutanée)



Effets sur la santé

Voie respiratoire : la plus étudiée, un risque a été identifié à travers le suivi des postes de travail des personnels impliqués dans la production ou la manipulation de ces nanomatériaux.

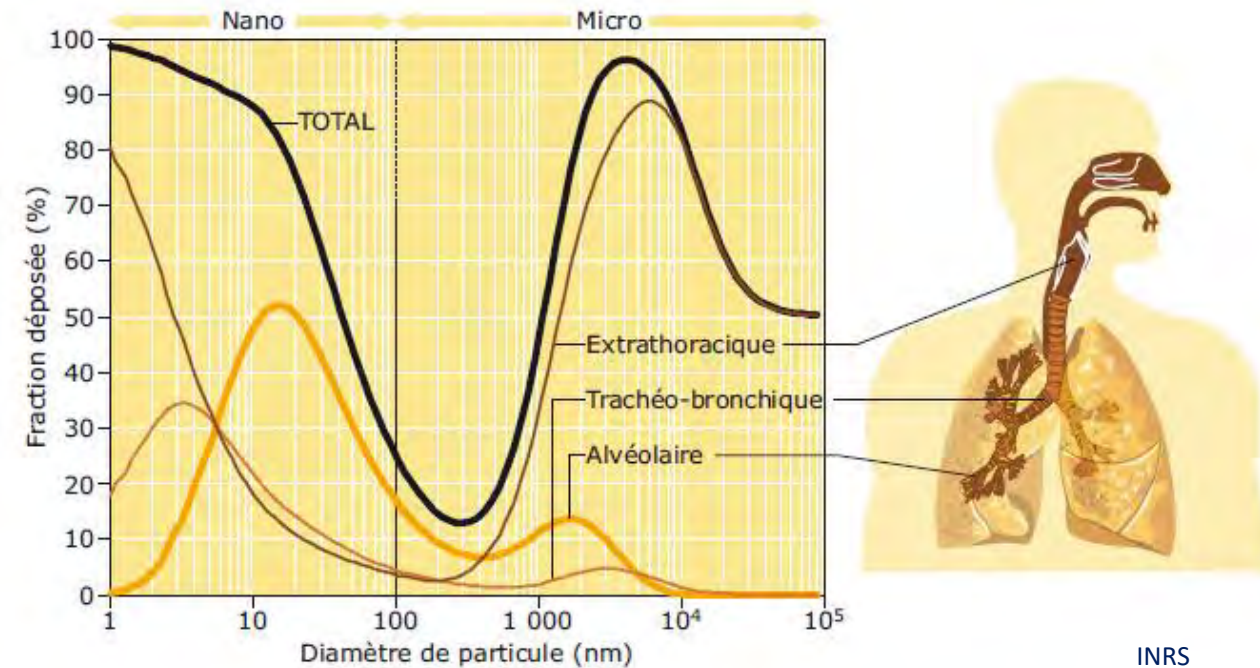
NP sont très volatiles : risque majeur associé une exposition de l'appareil respiratoire.

Les particules les plus fines atteignent les compartiments alvéolaires où ils induisent une réponse biologique de type inflammation.

Une fois dans le poumon, les NPs peuvent franchir la barrière pulmonaire pour atteindre le système circulatoire et s'accumuler dans certains organes secondaires.

L'impact **par inhalation** :

- inflammation pulmonaire,
- augmentation des pathologies respiratoires chroniques (asthme ou bronchopneumopathies chroniques obstructives),
- pourraient aussi être responsables de graves infections pulmonaires comme celles après exposition à l'amiante ou à la silice (plaques pleurales, cancer pulmonaire)(Oberdörster G, 2005)



INRS

Effets sur la santé

Voie cutanée

La voie cutanée peut concerner le secteur professionnel mais aussi le consommateur nombreux produits cosmétiques, crèmes solaires contiennent des nanomatériaux.

L'impact de cette voie sur d'éventuels effets sur la santé ne semble pas prédominant et reste plus à l'état d'hypothèse (Sadried, 2010).

Voie digestive

2 sources différentes :

- relargage à partir des emballages alimentaires

- directement à partir de l'alimentation (nourriture ou boissons) où elles sont présentes sous forme d'additifs.

 - le plus souvent enrobées, mises en suspension ou incluses dans la masse.

peu d'études sur l'impact d'une exposition par voie orale. Cependant des avancées récentes (2016-2017) inquiètes existent dans la mesure où les NM peuvent franchir la barrière intestinale et se diffuser dans l'organisme pour potentiellement induire des effets toxiques.

Un article publié dans Gut en 2016 : TiO_2 pourrait accentuer la maladie de Crohn et autres inflammations chroniques du tube digestif

Chez la souris l'administration orale de TiO₂ NP aggrave la colite

Downloaded from <http://gut.bmj.com/> on June 30, 2016 - Published by group.bmj.com
 Gut Online First, published on March 16, 2016 as 10.1136/gutjnl-2015-310297
 Inflammatory bowel disease



ORIGINAL ARTICLE

Titanium dioxide nanoparticles exacerbate DSS-induced colitis: role of the NLRP3 inflammasome

Pedro A Ruiz,¹ Belen Morón,¹ Helen M Becker,¹ Silvia Lang,¹ Kirstin Atrott,¹ Marianne R Spalinger,¹ Michael Scharl,^{1,2} Kacper A Wojtal,¹ Anne Fischbeck-Terhalle,¹ Isabelle Frey-Wagner,¹ Martin Hausmann,¹ Thomas Kraemer,³ Gerhard Rogler^{1,2}



Summary of the information

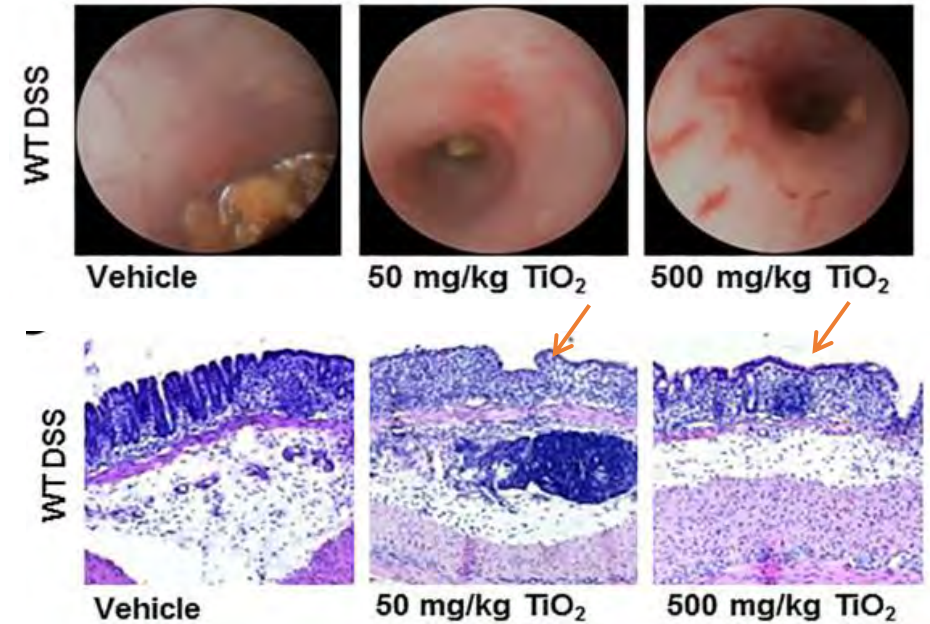
In vivo: a mouse model of acute colitis Oral administration of TiO₂ NP worsened acute colitis through a mechanism involving the NLRP3 inflammasome.

In vitro: human IECs and macrophages

- TiO₂ particles were taken up by both cells triggered NLRP3-ASC-caspase-1 assembly, caspase-1 cleavage, the release of NLRP3-associated interleukin (IL)-1β and IL-18.
- induced ROS generation
- increased epithelial permeability in IEC monolayers.

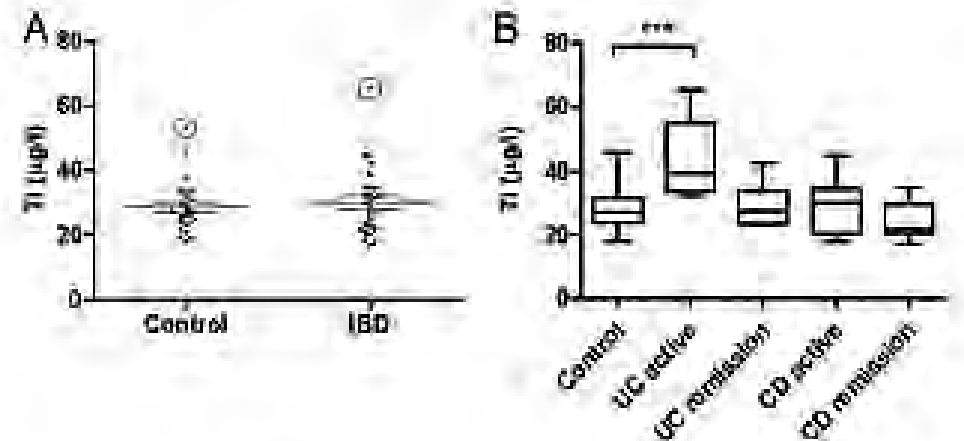
In patients with IBD

Compared to healthy subjects, increased levels of titanium in blood of patients with UC having active disease.



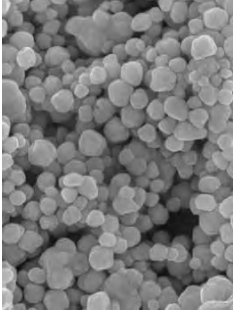
Dosages sanguins de TiO₂ chez l'homme

taux non nuls de titane circulant chez les témoins : 23μg/L



Les nanomatériaux suspects

nano Ag propriétés bénéfiques vis à vis des bactéries pathogènes

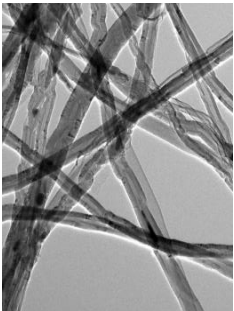


mais néfastes pour l'environnement (bioaccumulation, impact sur faune, poissons, microorganismes...)

quid des bactéries bénéfiques (station d'épuration), quid des bactéries constituant le microbiote?

pourrait participer à l'augmentation de l'antibiorésistance

nanotube de carbone NTC classés 2B par le CIRC en 1996,



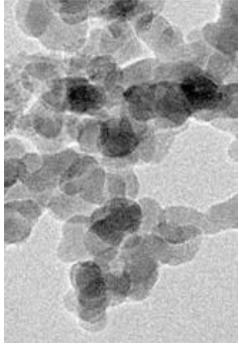
La toxicité des **nanotubes de carbone** (NTC) classés 2B (cancérogène possible) par le CIRC est liée à leurs propriétés d'agglomération (CIRC vol.92, 2010). Les agglomérats de NTC présentent des formes similaires

aux fibres d'amiante et peuvent être à l'origine du développement de plaques pleurales et de mésothéliomes de la plèvre (Lam, 2006 ; Sanchez, 2009).

La concentration maximale dans l'air de NTC ou de nanofibres de carbone (CNF) est de **1 mg/m³** (NIOSH 2011).

Les nanomatériaux suspects

nano SiO₂ l'additif alimentaire E551 fait l'objet d'une réévaluation du risque au sein de l'EFSA

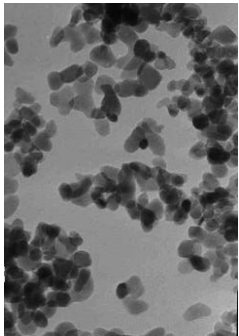


Généralement rapporté comme inoffensif comme additif alimentaire.

Mais des études montrent qu'à faible dose des effets néfastes sont possibles sur le foie (Van der Zande 2014).

Une redistribution au cours du temps est aussi observé. Des études de long terme manquent.

nano TiO₂ après études *in vivo*, classé en catégorie 2B par le CIRC en 2006: cancérigène possible par inhalation chez



l'homme (concerne surtout les travailleurs).

En France, pas de valeur limite d'exposition mais une proposition a été publiée en 2016 par l'INRS

(VLEP définies par le NIOSH : **(10h/jour pour une semaine de 40 heures) à 0,3 mg/m³ si (<100nm)**)

L'Anses : élaboration d'une proposition de classification du TiO₂ dans le cadre du règlement CLP (règlement CE n° 1272/2008, Classification, Labelling and Packaging « CLP »)

Pour les autres voies, intragastrique et cutanée, les études disponibles n'indiquent pas de potentiel cancérigène. Une publication récente (2017) de l'INRA rapporte des effets cancérigènes possibles du E171 chez le rat après ingestion.

Administration orale de E171 chez le rat

SCIENTIFIC REPORTS

OPEN

Food-grade TiO₂ impairs intestinal and systemic immune homeostasis, initiates preneoplastic lesions and promotes aberrant crypt development in the rat colon

Received: 13 June 2016
Accepted: 06 December 2016
Published: 20 January 2017

Sarah Bettini¹, Elisa Boutet-Robinet¹, Christel Cartier¹, Christine Coméra¹, Eric Gaultier¹, Jacques Dupuy¹, Nathalie Naud¹, Sylviane Taché¹, Patrick Grysan², Solenn Reguer³, Nathalie Thieriet⁴, Matthieu Réfrégiers³, Dominique Thiaudière³, Jean-Pierre Cravedi¹, Marie Carrière^{5,6}, Jean-Nicolas Audinot², Fabrice H. Pierre¹, Laurence Guzylack-Piriou¹ & Eric Houdeau¹



Rats exposés à **10 mg/kg/jour de E171**
dose proche de l'exposition alimentaire humaine
(selon des données de l'EFSA)

Le TiO₂ passe dans la circulation sanguine via la paroi
intestinale, est retrouvé dans le foie

4 animaux sur 11 exposés au TiO₂ par l'eau de boisson
pendant 100 jours

lésions préneoplasiques colorectales

Les rats préalablement traités avec un cancérigène
expérimental présentent une augmentation de la taille des
lésions préneoplasiques

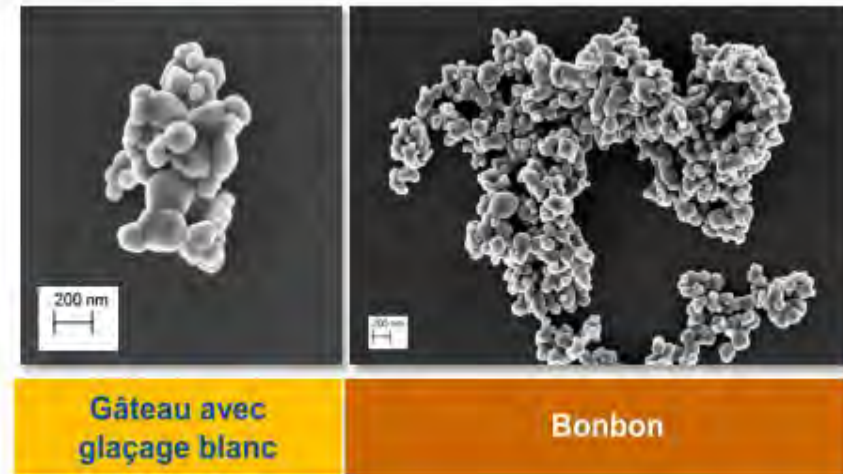
Altération de la réponse immunitaire

➡ Suggère un effet initiateur et promoteur des stades précoces de la cancérogénèse colorectale
sans permettre d'extrapoler à l'homme et pour des stades plus avancés de la pathologie

➡ Nécessite la conduite d'études complémentaires:
étude de carcinogénèse selon les standards de l'OCDE
exposition de deux ans de groupes de 100 animaux

Au regard des conclusions de cette étude, les ministères chargés de l'économie, de la santé et de l'agriculture ont saisi l'Agence nationale de sécurité sanitaire de l'alimentation, de l'environnement et du travail (Anses), pour déterminer si l'additif alimentaire E171 "présente un éventuel danger pour les consommateurs".

Actualité : nanoTiO₂ dans l'alimentation



Actions des ONG :
médiatisation – campagne de mesure (LNE)
demande de l'application de la loi étiquetage obligatoire
lettre ouverte au gouvernement dépôt de plainte

Campagne de mesure sur 100 produits alimentaires DGCCRF (2017-2018)
Annonce du retrait de ces colorants par les grandes marques (2018)

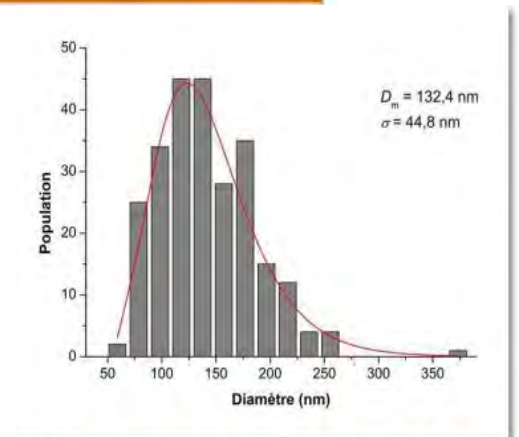
industrie-alimentation-consommation-confiserie-bonbons-santé
Carambar and Co retire le dioxyde de titane (nanoparticule) de ses chewing-gums Malabar

Mobilisation ANSES évaluation des nanomatériaux dans l'alimentation

analyse de la filière agroalimentaire, analyse du risque pour la santé, travailleurs & consommateurs

27 mai 2018 : la suspension du E171 adoptée à l'Assemblée nationale :

L'amendement n°2557 du gouvernement visant suspendre "la mise sur le marché de l'additif E171 (dioxyde de titane - TiO₂) ainsi que les denrées alimentaires en contenant" a été adopté à l'Assemblée nationale le dimanche 27 mai 2018 dans le cadre de la Loi Alimentation



Distribution de taille en nombre typique
(ici, nanoparticules extraites d'un bonbon)

Un exemple de travaux de recherches en cours

LE PROJET “RELEASE_NANOTOX”

IMPACT SUR LE SYSTÈME NERVEUX DES AÉROSOLS LIBÉRÉS A PARTIR DES MATÉRIAUX NANOCOMPOSITES SOUS CONTRAINTE D’USAGE

OBJECTIFS

Elaborer une approche réaliste selon un scénario reproduisant une exposition chronique aux nano-objets en usage commun.

Apporter de nouvelles connaissances sur les répercussions possibles sur la santé du cerveau

Le projet a été construit afin de recueillir des données utiles au domaine de la santé humaine en milieu professionnel

Financements projet Release_Nanotox ANSES : N°EST-2014/1/178

Partenaires associés :





FORUM 2018 LES RISQUES EMERGENTS

Nanomatériaux et impact sur la santé

Financements projet Release_Nanotox ANSES : N°EST-2014/1/178

