



SANTÉ-ENVIRONNEMENT ET SANTÉ-TRAVAIL NOUVELLES PERSPECTIVES DE RECHERCHES

**SÉMINAIRE DE PROSPECTIVE SCIENTIFIQUE
ET DE LANCEMENT DU PROGRAMME RECHERCHE
DU PLAN NATIONAL SANTÉ ENVIRONNEMENT ET DU PLAN SANTÉ TRAVAIL**

Document d'orientation scientifique

31 mars et 1^e avril 2005

organisé par
le ministère délégué à la Recherche

le CEA, le CEE, le CNRS, la CPU, l'INED, l'INRA, l'INSERM, l'Institut Pasteur, l'IRD,

dans le cadre du Plan national santé environnement et du Plan santé travail
en liaison avec

le ministère des Solidarités, de la Santé et de la Famille, le ministère de l'Écologie
et du Développement durable, le ministère de l'Emploi, du Travail et de la Cohésion sociale

1.2

INTERFACE MILIEUX / IMPACTS SUR LA SANTE

Etablir une relation entre un ou des facteurs d'environnement et l'apparition ou l'aggravation d'une pathologie nécessite de mobiliser différentes approches.

L'épidémiologie permet d'identifier et de quantifier l'impact sanitaire des conditions réelles d'exposition dans des populations exposées, pour des raisons professionnelles, accidentelles ou géographiques.

Les progrès de la biologie, notamment moléculaire, complètent la définition du risque encouru et la caractérisation de l'effet, par une mise en évidence des mécanismes d'action des toxiques. Ces dernières données permettent de contribuer à l'établissement des bases objectives des réglementations et d'étudier : les effets d'exposition chroniques à faibles doses au niveau moléculaire et cellulaire sur des espèces modèles, ou des systèmes in vitro représentatifs du monde vivant ; les effets des expositions chroniques à de faibles doses au niveau de l'organisme ou de l'individu ; les effets d'exposition à plusieurs type de polluants à faible dose ; le dosage et la spéciation des toxiques et la caractérisation des formes chimiques.

Cette approche mécanistique est rendue possible par les nouvelles techniques d'analyse chimiques qui permettent de mesurer la présence d'éléments ou de molécules à l'état d'ultra traces, de les quantifier et de suivre leur déplacement et leur évolution dans les cellules vivantes, les systèmes cellulaires, les sols minéraux et organiques, l'atmosphère. L'élaboration de nouvelles synthèses adaptées aux critères environnementaux et sanitaires, de nouvelles techniques chimiques pour la lutte contre la pollution, la prévention, la substitution, le recyclage doit également être renforcée. Les sciences chimiques doivent aussi contribuer à la meilleure compréhension des mécanismes physicochimiques fondamentaux qui sont à la base du transfert de la chimie de polluants dans l'environnement (atmosphère, sols, sédiments, organismes vivants).

La pluridisciplinarité qu'il est nécessaire de mettre en œuvre pour étudier les risques auxquels sont exposés l'environnement et les populations est illustrée par le domaine émergent des nanotechnologies. La connaissance particulière des effets des nanoparticules produites par l'industrie sur la santé passe par leur caractérisation physico-chimique, leur classification selon leur degré de réactivités de surface, la détection et la caractérisation de l'exposition des personnels de fabrication et utilisateurs, et l'étude de leurs effets biologiques potentiels sur l'homme.

NANOPARTICULES ET SANTÉ

Coordination

Dr. Jorge Boczkowski, Directeur de Recherche, INSERM, Unité 700,
Faculté de Médecine X. Bichat

Dr. Eric Gaffet, Directeur de Recherche, CNRS, European Academy of Sciences NanoMaterials
Research Group, NRG - UMR 5060 CNRS / UTBM

Dr. Alain LOMBARD, Toxicologue, ARKEMA

Coauteurs

Dr. Benoît Hervé-Bazin, Chargé de Mission, Département Direction Scientifique, INRS

Dr. Christophe Proust, Animateur Scientifique, Direction des Risques Accidentels, INERIS

Dr. François Tardif, Responsable de la Section d'Application des Traceurs, CEA-Grenoble

Dr. Olivier Witschger, Ingénieur de recherche, Laboratoire de Métrologie des Aérosols, Département
Métrologie des Polluants, INRS

Introduction (*Jorge Boczkowski*)

Les nanotechnologies constituent un champ de recherche et de développement impliquant la fabrication de structures, dispositifs et systèmes à partir de procédés permettant de structurer la matière au niveau atomique, moléculaire ou supramoléculaire à des échelles caractéristiques de 1 à 100 nanomètres (nm). On peut atteindre de nouveaux comportements de la matière due à la prépondérance des lois de la physique quantique s'exprimant essentiellement à cette échelle. De nombreuses applications industrielles et médicales se développent à très grande vitesse. Ainsi, on peut considérer que l'avènement des nanotechnologies constitue un tournant majeur dans le développement industriel du XXI^e siècle. La production de nanoparticules aussi nommées "particule ultra-fines" ou « PUF » (ces termes désignent les particules dont la taille est inférieure à 100 nm) va augmenter de manière exponentielle dans les prochaines années. **L'état de la connaissance sur les effets des particules micro/nanométriques de la pollution atmosphérique fait craindre des effets sur la santé des nanoparticules fabriquées par l'homme. Cependant, très peu de données sont disponibles actuellement dans ce domaine. Mais les quelques études publiées font état d'interactions des nanoparticules au niveau cellulaire, qui incitent à la prudence.**

Le propos de cette note est de faire un point, aussi exhaustif que possible, sur le contexte dans lequel la problématique « nanoparticules-santé » se développe, sur les principales questions scientifiques dans ce domaine, sur la dynamique scientifique en France et à l'étranger et sur les perspectives et priorités de recherche envisageables.

Quelques définitions (*Eric Gaffet*)

On s'accorde généralement pour dire que les nano-matériaux sont des matériaux composés ou constitués de nano-objets. Ceux-ci confèrent à ces matériaux des propriétés améliorées ou spécifiques de la dimension nanométrique (1-100 nanomètres).

Ces nano-objets peuvent se présenter sous la forme de particules, d'agrégats, de fibres ou de tubes, de cristaux ou lamelles.

Les nano-objets sont utilisés soit en tant que tels (par exemple, comme catalyseur pour les réactions chimiques, comme vecteurs pour transporter des médicaments au niveau des cellules cibles, pour le polissage de « wafers » et disques durs en microélectronique...), soit en vue d'élaborer de nouveaux matériaux. Les nanomatériaux sont regroupés en trois catégories :

- *Les matériaux nanorenforcés* : Les nano-objets sont incorporés ou produits dans une matrice pour apporter une nouvelle fonctionnalité, ou modifier des propriétés physiques. Les nano-composites en sont un bon exemple de renfort afin d'acquérir une résistance à l'usure supérieure.
- *Les matériaux nanostructurés en surface* : Les nano-objets constituent les éléments de revêtements de surface. Les procédés de fabrication de ces revêtements de surface s'appuient sur des principes de dépôt physique (PVD, faisceau d'électrons, ablation laser...) ou chimique (CVD, épitaxie, sol-gel).

- *Les matériaux nanostructurés en volume* : Les nano-objets peuvent également être les éléments de matériaux massifs qui, par leur structure intrinsèque nanométrique (porosité, microstructure, réseau nanocristallin) bénéficient de propriétés physiques particulières.

Le contexte économique et social (Eric Gaffet)

Le marché des nanotechnologies/nanomatériaux. La Commission Européenne a estimé que le marché mondial des nanotechnologies en 2001 était légèrement supérieur à 40 milliards d'euros. En 2010-2015, les enjeux économiques liés à l'avènement des nanotechnologies au niveau mondial devraient atteindre 1000 milliards d'euros par an (tous secteurs confondus), et concerner **directement l'emploi de près de 2 millions de personnes**. D'après l'étude « Le financement des nanotechnologies et des nanosciences. L'effort des pouvoirs publics en France : Comparaisons internationales » publié en Janvier 2004 pour le compte du MJENR (Ministère de la Jeunesse, de l'Éducation Nationale et de la Recherche) qui avait pour objet d'inventorier les moyens et les crédits publics consacrés aux nanotechnologies, il ressort que la France consacre à ce domaine un effort important. **Cependant, très peu du financement en France concerne l'évaluation des effets des nanoparticules sur la santé.**

Les utilisations des nanomatériaux. Les utilisations des nanomatériaux sont multiples.

Dans le domaine particulier de la santé, il conviendra de retenir les champs d'applications suivants déjà opérationnels ou en phase de développement :

- Diagnostic et Nanodétection (Transcriptomique, Protéomique, Biocapteurs, Imagerie cellulaire et moléculaire)
- Microsystèmes biologiques (Lab-on chips ; cell-on chips)
- Thérapeutique (Délivrance de médicaments, vectorisation, thérapie génique, nano encapsulation, nanosphères, nanovecteurs pour transfert de gènes, dendrimères)
- Médecine réparatrice et microchirurgie (Prothèses et nano-implants)

Le marché mondial des nanoparticules pour des applications biomédicales, pharmaceutiques et cosmétiques a été estimé (Rapport de la Direction Générale de l'Industrie, des Technologies de l'Information et des Postes, 2004) à 85 millions d'euros en 2000 et devrait atteindre 126 millions d'euros en 2005, soit un taux de croissance annuel moyen de 8,3 %. Il s'agit du marché représenté par les particules inorganiques utilisées pour produire des agents antimicrobiens, des marqueurs biologiques pour la recherche et le diagnostic, des procédés de séparation biomagnétiques, des vecteurs d'administration de médicaments, des milieux de contraste pour l'imagerie à résonance magnétique, des dispositifs orthopédiques et des écrans de protection solaire.

Les principales questions scientifiques dans le domaine

Des questions scientifiques importantes dans le domaine « nanoparticules et santé » concernent *i)* la caractérisation physico-chimique et la classification des nanoparticules selon leur degré de réactivité de surface, signe d'effets biologiques potentiels, *ii)* la détection et la caractérisation de l'exposition à ces particules des employés de fabrication et utilisateurs et *iii)* leurs effets biologiques potentiels sur l'homme.

La voie respiratoire constitue la voie majeure de pénétration de ces particules dans l'organisme et pour cette raison nous nous sommes concentrés sur les questions soulevées par la détection des nanoparticules en suspension dans l'air et sur l'exposition aux aérosols de ces particules. Il est à noter cependant des interrogations quant à une possibilité de pénétration par voie cutanée, ainsi qu'un transfert secondaire possible par voie digestive

Ces questions concernent aussi bien les travailleurs du secteur des nanotechnologies /nanomatériaux, qui peuvent être exposés à des concentrations importantes de nanoparticules, que la population en général, dont l'exposition à ces nanoparticules est plus indirecte. Finalement, le risque associé à l'explosion de nanoparticules constitue également une question importante et peu étudiée, qui concerne le personnel impliqué dans la fabrication de nanomatériaux à partir des nanoparticules.

Caractérisation de l'exposition aux aérosols ultra-fins (nanoparticules) (Olivier Witschiger)

Introduction

Par "aérosol ultra-fin" on désigne un aérosol composé de particules ultra-fines (microparticules et nanoparticules dont la gamme de dimension, s'étend d'un nanomètre jusqu'à environ 1000 nm [soit un micron]), qui sont dispersées dans l'air sous forme individuelles ou groupées sous forme d'agglomérats/agrégats.

La question de la mesure des aérosols ultra-fins en atmosphères de travail est récente. On recense encore très peu d'équipes de recherche dans le monde, et finalement de retours d'expériences sur l'application de techniques ou de méthodes dans le domaine de la santé au travail. Pourtant ce type de mesure possède ses propres spécificités (par rapport à une problématique environnementale) en termes de diamètre pertinent pour décrire les particules, de métrique (masse, nombre, surface), gamme de concentration, gamme de taille des particules, évolution temporelle, accessibilité, stratégie et autres caractéristiques physico-chimiques.

La caractérisation des particules ultra-fines fait appel à une instrumentation spécifique qui diffère de celle habituellement utilisée en hygiène du travail. Les méthodes classiques ne sont pas adaptées, car le comportement des aérosols ultra-fins changent par rapport aux aérosols "microniques") (ce n'est par exemple plus un comportement "aérodynamique" mais plutôt guidé par la "diffusion" de type gazeux). Les techniques nécessaires pour mesurer ces différentes caractéristiques ne sont pas à l'heure actuelle entièrement disponibles. Elles demandent donc à être développées car la disponibilité de celles-ci est un pré-requis essentiel aux mesures d'exposition. Des travaux de recherche sur les différents items déclinés ci-dessous seraient donc à encourager. Les résultats issus de ces études devraient contribuer à une meilleure connaissance des expositions professionnelles aux aérosols ultra-fins, qui est un élément essentiel pour l'évaluation des risques, et au-delà pour la prévention.

En milieu de travail, on doit distinguer les particules ultra-fines qui sont émises par les procédés ou technologies conventionnels, mettant en œuvre une action thermique ou une action mécanique, de celles éventuellement émises dans le domaine des nanotechnologies /nanomatériaux

En particulier, le développement rapide des nanomatériaux nous amène à penser que de nombreux employés pourraient être à l'avenir confrontés à des risques d'inhalation, de contact cutané ou d'ingestion.

Dans une optique d'évaluation de l'exposition professionnelle pour le risque d'inhalation, il est essentiel de privilégier une caractérisation des particules dispersées dans l'air, c'est à dire sur la *phase aérosol*. Par ailleurs, cela suppose chaque fois qu'il est possible d'utiliser des méthodes de mesures individuelles (ambulatoires), fondées sur l'emploi de techniques portables par l'employé que l'on place au niveau des voies respiratoires supérieures. Enfin, l'évaluation des expositions implique que la mesure doit s'effectuer suivant des critères pertinents vis-à-vis d'effets sur la santé. En conséquence tout développement d'instruments ou de méthodes doit s'effectuer à partir des éléments de connaissances issues des études de toxicologie ou épidémiologiques.

Les questions posées

Les huit items décrits ci-dessous recensent les sujets pour lesquels, à l'heure actuelle, le niveau de connaissance est faible, voire inexistant. Cette liste ne prétend pas être exhaustive sur le sujet.

Item 1 : Génération d'aérosols ultra-fins représentatifs.

Il s'agit de développer en laboratoire des méthodes de génération d'aérosols ultra-fins représentatifs des atmosphères de travail en termes de granulométrie, de concentrations et des autres paramètres caractéristiques comme l'état d'agglomération, la forme, la densité, l'état de charge électrique, la composition chimique, etc. Ces méthodes sont nécessaires pour les études de toxicologie et les tests des instruments de mesure des aérosols ultra-fins.

Item 2 : Instrumentation et méthodes de caractérisation des aérosols ultra-fins.

Il s'agit de développer de nouvelles techniques ou de nouvelles méthodes d'utilisation de techniques existantes pour caractériser les paramètres pertinents des aérosols ultra-fins en regard d'effets potentiels sur la santé.

Item 3 : Développement de méthodes pour la mesure de la métrique « surface ».

Les résultats publiés sur les effets sur la santé suggèrent que sur les trois métriques d'exposition que sont la masse, la surface et le nombre des particules, il existe une bonne évidence pour que les aérosols ultra-fins soient caractérisés en termes de « surface », sans toutefois privilégier cette

métrique unique. A l'heure actuelle il n'existe pas d'instrumentation ou de méthodes stabilisées pour répondre à cette demande. Les développements devraient également concerner des techniques portables.

Item 4 : Adéquation des méthodes d'analyses à la caractérisation chimique des particules ultra-fines.

Le développement de la connaissance des caractéristiques chimiques des particules ultra-fines est nécessaire pour une meilleure estimation des expositions et des risques. Pour ce qui est de la spéciation, elle est bien souvent fonction des conditions de génération. Il y a sur ce thème un vrai travail de recherche à entreprendre en termes de développement de méthodes d'analyses chimiques couplées aux méthodes d'échantillonnage. Compte tenu des faibles niveaux de concentration attendus, une réflexion sur la précision des résultats est primordiale.

Item 5 : Développement de stratégies de mesures des expositions.

Il est probable que les événements à l'origine de l'émission de particules ultra-fines dans l'air soient fugitifs ou bien instables, induisant une variabilité dans l'espace et dans le temps des concentrations et de la granulométrie. Compte tenu de la mobilité des opérateurs, des conditions d'émissions multiples et des mouvements d'air, les données obtenues à point fixe ne peuvent être directement transposées en données d'exposition sans considération particulière. La stratégie de mesure est donc un point clé de la caractérisation des aérosols ultra-fins qu'il convient d'aborder dans le cadre de recherches.

Item 6 : Analyse des données.

D'une façon générale, il convient d'être prudent quant à l'interprétation des données obtenues à l'aide des différentes techniques. En particulier le résultat d'une mesure de concentration en nombre est très sensible à l'efficacité de comptage de l'instrument considéré. Il est indispensable de s'interroger sur les limites en termes de tailles et de concentrations. Des études d'inter-comparaisons sont nécessaires. A notre connaissance il n'existe quasiment pas d'installation de laboratoire dédiée à des tests d'appareils de métrologie pour des aérosols ultra-fins.

Item 7 : Étude de mise en suspension

Connaître la propension d'une poudre nanostructurée à former un aérosol (en anglais « dustiness ») sous l'action d'une agitation, d'un déversement ou d'un flux d'air est d'un grand intérêt pour l'industrie. Cela permettrait de définir a priori les mesures adéquates de prévention lors de la manipulation de ces poudres. Un travail pourrait être mené pour connaître l'adéquation des procédures d'essais existantes, notamment celles décrites dans la norme européenne EN 15501.

Item 8 : Étude sur la filtration

La filtration de l'air joue un rôle important dans la maîtrise de l'exposition professionnelle aux aérosols que cela soit au niveau du traitement de l'air (dépoussiéreurs etc.), des appareils de protection respiratoire ou des mesures d'exposition effectuées par échantillonnage de l'air.

Si la filtration des particules ultra-fines est relativement bien documentée, des interrogations scientifiques subsistent pour des dimensions nanométriques proches de celles de clusters moléculaires gazeux qui eux, en absence d'adsorption, ne sont pas arrêtés par les filtres.

Au-delà de l'aspect de filtration, c'est la question des fuites qui prend toute son importance pour les particules ultra-fines. Puisque les particules ultra-fines ont une diffusivité très élevée et une persistance importante dans l'air, on peut avancer l'hypothèse que dans une situation de pollution relativement homogène au voisinage du visage d'un opérateur, toutes fuites devraient conduire à diminuer de manière drastique et rapide la protection de ce dernier de la même manière que pour un gaz. Cependant, sur ce point, aucune recherche spécifique n'a été conduite jusqu'alors et cela ne reste pour le moment qu'une hypothèse.

Moyens de détection actuels de nanoparticules et perspectives (François TARDIF)

Généralités

La détection des nanoparticules dans l'environnement professionnel constitue une étape indispensable pour le développement de la production de masse des nanomatériaux.

Des moyens de détection des nanoparticules sont indispensables pour optimiser les méthodes de confinement (ventilation, filtration, ...), qualifier les dispositifs de protection individuelle (masques,

tenues, gants, ...) et même optimiser les méthodes de récupération des nanomatériaux dans les équipements de production.

Il est donc important de disposer à court terme de moyens de détection des nanoparticules pouvant être utilisés en milieu industriel et dans l'Environnement : sensibilité suffisante en taille et quantité, fiabilité, bas coût, simplicité d'utilisation, ...

Particules naturelles/particules artificielles

L'air contient des quantités très importantes de particules ultra-fines naturelles : environ plus de 10 000 dans 1 cm³ pour des particules supérieures à 10 nm. De plus, plus on considère des particules de petites tailles et plus les concentrations sont importantes. Cela signifie que si l'on veut détecter spécifiquement les particules d'origine industrielle fabriquées par l'homme en tant que "particule", le bruit de fond naturel va diminuer considérablement leurs limites de détection.

Si l'on souhaite diminuer les limites de détection des particules ultrafines (nanoparticules) d'origine industrielle, il faut donc les détecter en utilisant des caractères spécifiques : leur matériau constitutif, leur forme si elle est particulière, ... ou utiliser d'autres concepts comme le traçage.

Etat de l'art : compteurs de particules

Les compteurs de particules conventionnels utilisant la diffusion de la lumière, développés notamment pour la microélectronique, permettent de détecter et de mesurer la taille des particules de taille jusqu'à 50 nm uniquement. En faisant croître artificiellement au préalable la taille des particules dans des vapeurs supersaturées, on peut également détecter des particules de quelques nm mais sans connaître leur taille initiale (Compteur à Noyaux de Condensation) ce qui n'est pas satisfaisant dans le cas général.

Enfin, des compteurs permettant de détecter et de mesurer la taille des particules de quelques nanomètres sont disponibles sur le marché (Scanning Mobility Particle Sizer). Ils utilisent les propriétés électrostatiques des particules. Ces appareils sont destinés en général aux laboratoires (prix élevé, maniement par des experts). Quelques appareils spécifiques sont commercialisés en Europe et aux USA avec des prix très prohibitifs pour une utilisation en routine, et des performances inégales.

Développements nécessaires

Il est nécessaire de disposer à court terme de moyens de détection des particules ultrafines (nanoparticules) d'origine industrielle pouvant être utilisés en milieu industriel. Ces appareils doivent avoir une sensibilité suffisante en taille et concentrations, une bonne fiabilité, un bas coût, et une simplicité d'utilisation, ainsi qu'une fréquence d'entretien espacées, et la mise en réseau informatique de surveillance. Malheureusement, aucun moyen adapté au contexte industriel n'est disponible aujourd'hui.

Une stratégie raisonnable peut consister d'une part à optimiser les compteurs de particules ultrafines existants malgré leur limitation intrinsèque due au bruit de fond élevé des particules naturelles et d'autre part pour le plus long terme, développer des méthodes sensibles de façon spécifique aux particules d'origine industrielle afin de tenter d'abaisser les limites de détection.

Une valorisation Nationale directe peut être envisagée pour les méthodes spécifiques. La détection des nanoparticules dans les liquides peut être traitée à plus long terme car les enjeux sur la santé sont plus faibles.

Particules ultra-fines (PUF) : bref aperçu des connaissances toxicologiques

(Benoît HERVE-BAZIN)

Introduction

L'exposition aux PUF n'est pas, en dépit de « l'effet de mode » actuel, une nouveauté. Elle a toujours existé dans l'environnement (pollens, fumées de tous types) et est très ancienne dans le monde du travail, soit secondairement (condensation de fumées émises par des fours métallurgiques, fumées de soudage, décompositions thermiques...), soit, plus récemment, directement (fabrication et utilisation de noirs de carbone, silices amorphes, notamment). Les évolutions techniques de ce dernier quart de siècle ont permis d'étudier et de commencer à comprendre ce que l'homme pourrait tirer d'une exploitation rationnelle des nanoparticules ; elles ont cependant eu lieu, la plupart du temps, sans se préoccuper d'éventuels risques pour la santé résultant d'expositions professionnelles plus ou moins maîtrisées.

Ceci est d'autant plus regrettable qu'il est connu que les PUF se déposent dans les voies pulmonaires, notamment le poumon profond, en proportion nettement supérieure à celle de particules plus grosses, et que le dépôt est plus important lors d'une activité physique qu'au repos (Daigle et coll., 2003).

Quel paramètre privilégier ?

Dès les années 90, quelques travaux avaient montré, chez l'animal, des propriétés toxiques spécifiques aux PUF (Oberdörster et coll., 1992), mais n'avaient pas retenu l'attention des milieux professionnels. Ce sont les travaux environnementaux, commencés dans les mêmes années, qui ont mené à une prise de conscience des risques à partir d'études de mortalité et morbidité liées à des épisodes de pollutions urbaines aiguës. Depuis, nombre d'études ont cherché à dégager le(s) paramètre(s) le(s) mieux corrélé(s) aux effets biologiques résultant de l'exposition aux PUF, notamment par inhalation.

En hygiène du travail, on a longtemps évalué le risque résultant de l'exposition aux « poussières » en fonction de leur concentration massique dans l'atmosphère inhalée par le travailleur. Dans le cas des PUF, le paramètre pertinent devient le nombre et/ou la surface des particules ; d'autres facteurs ont été évoqués, notamment le rôle de métaux et la formation de radicaux libres.

Le nombre ?

Dans le domaine expérimental, peu d'études impliquent le paramètre nombre de particules ; elles ont été menées avec des PUF de dioxyde de titane (TiO₂), matériau jusque récemment choisi comme « modèle » de toxicité limitée, au point d'avoir été souvent qualifié « d'inerte » (Oberdörster et coll., 1990 ; Ferin et coll., 1991, 1992). Elles ont permis de constater que ces PUF ont la propriété de pénétrer l'épithélium pulmonaire beaucoup plus rapidement que des particules « grossières », et de passer dans les circuits lymphatiques, avec accumulation progressive dans les ganglions lymphatiques les plus proches ; on a également mis en évidence une distribution systémique par la circulation sanguine. Cette pénétration est favorisée par les paramètres taille et nombre de particules, ainsi que vitesse d'administration.

Les données sont plus fournies dans le domaine environnemental. Elles montrent des corrélations entre pollution particulaire urbaine (comportant un nombre importante de PUF) et divers paramètres de la fonction respiratoire, qu'il s'agisse de la pollution du jour même ou des quelques jours précédant les évaluations. On constate souvent un lien statistiquement plus fort en considérant la pollution moyenne sur les 5 jours précédents, par exemple (Peters et coll., 1997 ; Penttinen et coll., 2001a, 2001b).

D'autres constatent des effets sur le système cardiovasculaire (dépression du segment S-T de l'électrocardiogramme chez 45 adultes atteints d'une maladie coronarienne stabilisée ; Pekkanen et coll., 2002).

L'une des difficultés de ces études est la présence fréquente de copolluants tels que l'oxyde de carbone, les oxydes d'azote, ou encore l'ozone, dont les variations de concentrations sont souvent liées à celles des PUF. Ceci oblige à améliorer les méthodes de dépouillement statistique de séries de données, à comparer des données issues de villes différentes ou d'autres périodes de l'année...

La surface des particules ?

Là encore, dès les années 90, Oberdörster et Yu (1990), après sélection des études animales ayant chiffré la charge pulmonaire en fin de période d'exposition, constataient que l'incidence des tumeurs pulmonaires ne se situait de façon lisible qu'en fonction de la surface totale des particules. Ces chercheurs et bien d'autres ont confirmé cette observation par maints travaux prenant en compte divers paramètres tels que l'afflux des leucocytes polynucléaires dans les poumons, la modification de la perméabilité de l'épithélium pulmonaire, ou encore la translocation dans les ganglions lymphatiques (Oberdörster et coll., 1992, 1994 ; Tran et coll., 2000 ; Brown et coll., 2001 ; Höhr et coll., 2002 ; Dick et coll., 2003). L'intérêt de ces travaux, menés avec différents types de PUF (TiO₂, mais aussi noirs de carbone, nanoparticules de polystyrène, oxydes de cobalt ou encore nickel) est de confirmer qu'il existe bien « un effet PUF », mais que cet effet s'exprime différemment en fonction de la nature de la particule ; par exemple, une comparaison entre TiO₂ et noir de carbone (particules primaires d'environ 20 nm) a montré que ces PUF ne pénètrent pas l'interstitium alvéolaire de façon similaire (environ 50 % de la dose pour TiO₂ et seulement 4 % pour le noir de carbone ; Oberdörster et coll., 1992).

Dick et coll. (2003) proposent que les paramètres surface spécifique, composition chimique et réactivité de surface soient considérés comme intervenant dans la toxicité des PUF.

Ou encore d'autres paramètres ?

Les choses sont cependant moins simples qu'il n'y paraît, les variations des divers paramètres biologiques considérés n'étant pas nécessairement concomitantes (Oberdörster et coll., 1992).

De plus, d'autres paramètres que la surface interviennent, par exemple la cristallinité (phénomène largement étudié dans le cas de la silice ; Murphy et coll., 1998), la capacité à donner naissance à des radicaux libres (Dick et coll., 2003), ou encore la présence de métaux de transition biodisponibles (Aust et coll., 2002 ; Huang et coll., 2003).

Enfin, il est clair qu'il ne faut pas oublier les enseignements de la toxicologie classique, à savoir que, si certains paramètres physiques semblent jouer un rôle parfois prédominant dans le cas des PUF, la nature exacte de la particule (composition chimique, cristallinité, impuretés superficielles, etc.) a toujours son importance, qui peut en faire un cas particulier à part entière.

Par exemple, des recherches ont été entreprises sur la toxicité pulmonaire des nanotubes de carbone monofeuillet (single-wall carbon nanotubes, SWCNT). Ainsi, Warheit et coll. (2004) et Lam et coll. (2004) ont constaté, après instillation intra-trachéale chez le rat, l'apparition de granulomes épithélioïdes, soit apparemment aléatoires (Warheit et coll.), soit de manière dose-dépendante (Lam et coll.), ce qui a conduit Lam et coll. à se demander si ces nanotubes n'étaient pas plus toxiques pour le poumon que la silice cristalline, qui est pourtant une référence en la matière.

La découverte que des PUF peuvent parvenir au cerveau en suivant le trajet du nerf olfactif (Oberdörster E, 2004 ; Oberdörster G et coll., 2004) a fait croître une inquiétude essentiellement fondée sur une ignorance générale de la toxicologie des PUF (en général comme au cas par cas, à court comme à long terme), des mécanismes qui gouvernent cette toxicité, ainsi que des mesures de prévention adaptées et sûres.

Quels besoins de recherche en matière d'hygiène et sécurité au travail ?

Par ordre approché de priorité (plusieurs actions peuvent être simultanées) :

- Vérifier la validité des mesures générales et particulières de prévention appliquées aussi bien à la fabrication qu'à la mise en œuvre de PUF largement utilisées (noirs de carbone, dioxyde de titane, oxyde de zinc, mais surtout silices dites amorphes, trop peu étudiées jusqu'à présent), en développement (nanotubes de carbone, fullérènes, par exemple) ou même entièrement nouvelles. Dans un premier temps, l'accent sera mis sur l'évaluation de l'exposition professionnelle (voies pulmonaire, cutanée, orale).
- Réfléchir à la nécessité et la possibilité de définir des valeurs limites d'exposition professionnelle opérationnelles pour les PUF. Ceci a bien été fait pour l'environnement, pourquoi pas pour le monde du travail ?
- Approfondir la toxicologie des PUF les plus répandues sur le marché, en particulier des silices ultrafines (pyrogénées, colloïdales), du dioxyde de titane et de l'oxyde de zinc ultrafines (utilisés en cosmétique).
- Faire le point sur l'utilisation de PUF dans le monde médical : types de PUF, modalités d'utilisation, quantités manipulées, précautions prises, incidents, plaintes ou suggestions, etc.
- Étudier la possibilité de demander une déclaration de fabrication de PUF, et sous quelles conditions, en particulier si elles sont commercialisées. Étudier également la possibilité d'une déclaration (nature et quantité) dans le cas de PUF formulées non fixées dans une matrice.
- Effectuer une synthèse des connaissances d'ensemble sur les PUF afin de mieux discerner quels paramètres régissent le plus généralement leur toxicité, et quels types de PUF mériteraient des études spécifiques en priorité.
- Préciser et comprendre les mécanismes généraux qui gouvernent la dispersion des PUF dans l'organisme (voies cellulaires ou paracellulaires). Faire le point sur le danger d'un passage transplacentaire et ses éventuelles conséquences.
- Déterminer les organes cibles et les modes d'action, en lien avec les caractéristiques physiques et chimiques des PUF. Faire le point spécifiquement sur des organes cibles de première importance (cerveau, poumons, foie, rate, reins, cœur par exemple).
- Envisager de limiter par voie réglementaire toute émission ou dispersion de PUF dans l'environnement.
- Confier à un groupe de travail l'examen détaillé du risque de passage percutané des PUF et dire si, oui ou non, et dans quelles conditions, les PUF peuvent traverser cette barrière.
- Diffuser, par tout moyen approprié, les connaissances relatives à la toxicologie des PUF. Favoriser séminaires et rencontres d'échanges d'informations et d'expériences.
- Préciser à court terme une nomenclature propre aux PUF (définition d'une nanoparticule [le consensus actuel « particule de taille inférieure ou égale à 100 nm » est trop imprécis et mal

- justifié], des aérosols correspondants, distribution granulométrique, comment tenir compte de l'agglomération, nommer des nanoparticules composées, etc.)
- D'ici 3 à 4 ans, faire un point des recommandations effectuées, actions entreprises et leur efficacité, ainsi qu'un point spécifique relatif aux développements récents et leurs conséquences potentielles, et s'ils semblent nécessiter une adaptation des recommandations.

Le risque d'explosion induit par la manipulation de nanoparticules d'origine organique et minérales (Christophe PROUST)

Dans ce chapitre, comme dans les précédents, nous utiliserons la définition de nanoparticule qui l'assimile à "particule ultra-fine" ou « PUF », ces termes désignant les particules dont la taille est inférieure à 100 nm.

L'avènement des nanotechnologies est certainement un enjeu important dans le domaine large de la chimie. Le développement des procédés associés ne saurait être accepté en Europe sans que soient dûment pris en compte les aspects sécurité et environnementaux. A propos des aspects sécurité et environnementaux associés aux nanotechnologies, on pense immédiatement à la toxicité des PUF mais il ne faut pas oublier que la très grande majorité des produits pulvérulents sont combustibles (Eckhoff, 1991 ; Bartknecht, 1993; Field, 1982) et peuvent donner lieu à des explosions souvent appelées « explosions de poussières ». Ces accidents, relativement courants (un par jour : Pineau et al., 1993; Proust, 2003; Proust, 1999), sont considérés comme majeurs en raison de leur fort potentiel de destruction¹. De nombreux travaux scientifiques (Proust, 2004) ont été consacrés à l'étude de ces explosions : mécanismes de formation des nuages, processus d'amorçage et propagation, effets de pression induits... qui ont ouvert notamment la voie de la modélisation des accidents et la mise au point de techniques de prévention du risque (élimination des sources d'inflammation potentielles par exemple) et de protection (limitation des effets de pression induits grâce à l'utilisation de parois soufflables, d'extincteurs ultrarapides,...).

Au même titre que les poussières traditionnelles (quelques microns à plusieurs dizaines de microns), on peut s'attendre à ce que les nuages de PUF dans l'air puissent être explosifs dès lors que les particules sont capables de brûler dans l'air. Même dans l'hypothèse de procédés de petite taille (« intensifiés »), si une explosion survient, elle est susceptible de détruire tout ou partie du procédé dont surtout les éléments les plus faibles comme les filtres. En dehors des effets directs de la pression et d'éventuels débris projetés, on peut alors craindre la dissémination dans l'atmosphère d'une quantité importante de PUF propulsées par le souffle de l'explosion. Il s'ajoute alors au triptyque habituel de l'explosion flamme-pression-projectiles, une dimension toxique aggravant le risque global. On dispose certes d'outils analytiques et méthodologiques pour traiter le risque d'explosions de poussières mais il s'agit de particules dont la dimension typique est deux à trois ordres de grandeur au delà de la région des PUF. On dispose également d'outils analytiques et méthodologiques pour traiter le risque d'explosions de gaz mais les PUF peuvent être deux à trois ordres de grandeur plus grandes que les molécules. On peut penser que les connaissances disponibles pourront être transposées à condition cependant de vérifier que les régimes de propagation sont comparables et d'être capable d'en mesurer les caractéristiques.

La libération de l'énergie de combustion est réalisée par une flamme qui se propage dans le nuage. Cette flamme opère à la fois la combustion et l'inflammation des réactifs sous l'effet du transfert de chaleur par conduction depuis la zone de combustion vive. On peut imaginer que le comportement des nuages de poussières de plus en plus fines doit se rapprocher de plus en plus de celui des nuages de gaz. Cependant, la présence de très fines particules est susceptible de bouleverser très significativement le régime d'échanges thermiques, en introduisant un facteur de rayonnement d'autant plus intense que les milieux à PUF devraient être extrêmement denses optiquement. Les projections théoriques prédisent non seulement que la vitesse de la flamme pourrait être plus élevée mais en plus qu'elle évoluerait beaucoup en fonction de la forme de la flamme. Si cela se produit, la théorie classique des flammes, habituellement utilisée pour les explosions de gaz et de poussières, deviendrait caduque et en particulier les facteurs d'échelle pourraient s'en trouver modifiés c'est à dire la manière de dimensionner les dispositifs de sécurité. Une étude préliminaire sur de fines particules d'aluminium tend à confirmer ce point (Proust, 2004).

¹ Un exemple typique de la violence de ce type d'explosion de poussières est celui de l'installation de stockage de céréales le 20 Août 1997 à Blaye (Masson, 1998) qui a ravagé un solide ensemble de cellules de béton (capable de résister à plusieurs bars de surpression), tué plus de 10 personnes, et a eu des effets destructeurs dans un rayon de 500 m.

Par ailleurs, la diminution de la taille des particules devrait s'accompagner globalement d'une augmentation de la réactivité du nuage et, en particulier, de sa sensibilité à l'inflammation par étincelle. Il n'est pas impossible ainsi que les seuils d'inflammation rejoignent ceux des prémélanges gazeux explosifs traditionnels avec des énergies minimales d'inflammation de l'ordre de 1 millijoule ou moins. En soi, cette tendance prise isolément n'est pas effrayante puisqu'il est possible de lutter efficacement contre le risque d'inflammation par étincelle pour les prémélanges gazeux (cf. réglementation Européenne des appareils électriques par exemple). Cependant, la manipulation de particules se traduit quasi systématiquement par l'apparition d'électricité statique dans les procédés (Boudalaa et Proust, 2001) qu'il est d'autant plus difficile à évacuer que les seuils critiques d'inflammation sont bas. Pour l'exemple cité, 1 mJ ou moins, même des parois bien isolantes électriquement pourraient éventuellement donner lieu à des étincelles de décharge dangereuses. Ces deux facteurs conjugués, faible seuil d'inflammation par étincelle et production naturelle de charges pendant la manipulation, rendent le risque d'amorçage d'explosion par étincelles électrostatiques a priori élevé et pourrait nécessiter des développements de moyens de lutte spécifiques.

Enfin un dernier point concerne la formation dans l'atmosphère des nuages de PUF notamment sous l'effet d'un souffle d'explosion. On observe qu'il faut un écoulement pour mettre en suspension des particules et pour les y maintenir sous les effets antagonistes des forces de pesanteur, de contact et de traînée aérodynamique. Au delà de quelques dizaines de microns, le jeu des forces de pesanteur et de traînée paraît dominant. Dans la gamme 1 μ m-10 μ m, les forces de contact deviennent facilement prépondérantes. En dessous, l'expérience suggère que la traînée pourrait disparaître dans la mesure où la taille des particules devient comparable au libre parcours moléculaire. Clarifier ce point est utile pour le choix des techniques d'évaluation du risque de contamination : pourra-t-on par exemple utiliser des modèles de dispersion de gaz classiques ou faudra-t-il les modifier ?

Perspectives

Il semble que pour clarifier ces questions, il est nécessaire de s'intéresser au premier chef aux régimes de propagation des flammes sachant que pour cela il faudra parvenir à créer et à stabiliser des nuages de PUF dans l'air. Dans ce contexte, l'étude des mécanismes de mise en suspension serait indiquée en dehors de la motivation « nuage toxique » produit par le souffle de l'explosion. Séparément, on ne peut guère faire l'économie d'une étude de l'inflammation par étincelle et du chargement électrostatique. Ces travaux devraient permettre d'adapter les techniques existantes de mitigation du risque d'explosion à condition de ne pas oublier de mesurer les paramètres pertinents (différents de ceux utilisés en recherche fondamentale) et de vérifier par l'expérience qu'elles s'appliquent.

Aperçu de la dynamique scientifique à l'étranger (Eric GAFFET, Alain LOMBARD)

Institutions et programmes internationaux

Aux Etats Unis, de nombreuses institutions sont engagées dans des recherches sur la toxicité de nanoparticules (pour l'homme en général et, de façon particulière, pour les travailleurs des secteurs nanotechnologiques/nanomatériaux) : le NIOSH (National Institut for Occupational Safety and Health), l'EPA (Environmental Protection Agency) ; l'US department of Health and Human Services par l'intermédiaire du NTP (National Toxicology Program), programme supervisé par le National Institut of Environmental Health Science ; le Nano Ethics Center ; l'American Nanotechnology Preparedness Center ; le Center for Biological and environmental Nanotechnology (Rice University), le Environmental Health Sciences Center (Rochester University) etc...

Au Canada, l'Université de Toronto est au coeur de ce type de recherche (Joint Center for BioEthics).

La Commission Européenne a publié le compte rendu d'un « workshop » organisé en mars 2004 au cours duquel les risques préliminaires des nanotechnologies/nanomatériaux ont été analysés.

Au Royaume Uni, le Gouvernement a confié à trois organismes : Royal Society, National Academy of Science, Royal Academy of Engineering, le soin de mener une étude indépendante sur les bénéfices et les risques des nanotechnologies et le Better Regulation Task Force a également publié un document précédemment cité dans ce rapport.

En Suède, une étude de ce type a été confiée à la Lund University.

En Allemagne, plusieurs actions sont menées par l'Office d'évaluation technologique du Parlement.

En Suisse, le Bureau d'Evaluation Technologique et l'Institut Fédéral de Technologie conduisent également des études.

Programmes Européens 5^e et 6^e PCRD

Programmes Génériques incluant la notion d'évaluation des risques « Nanos »

NANOROADMAP (<http://www.nanoroadmap.it/>) co-financé dans le cadre du 6ème programme cadre. Travaux sur les nanotechnologies dans les dispositifs médicaux.

SHAPE-RISK (<http://shaperisk.jrc.it/index.html>) co-financé dans le cadre du 6ème programme cadre. But : optimiser l'efficacité du management du risque intégré de l'Industrie Européenne, dans le contexte du développement durable pour les déchets, et la réduction du risque dans la production, le stockage et l'utilisation des nanotechnologies et nanosciences.

CELLPROM (<http://www.cellprom.net/>) co-financé dans le cadre du 6ème programme cadre. Consortium pour l'élaboration de nanotechnologies cellulaires utilisables en médecine moléculaire et nano-biotechnologie cellulaire.

CHEMAG (http://europa.eu.int/comm/research/industrial_technologies/) Programme Européen de trois ans pour l'utilisation des sciences du matériel et des techniques chimiques de surface pour la synthèse et l'utilisation des acides nucléiques dans de nouvelles applications dans la sécurité alimentaire et la sécurité civile.

HEALTHY AIMS (<http://www.healthyaims.org/>) co-financé dans le cadre du 6ème programme cadre. Développement d'une série d'implants médicaux pour venir en aide aux personnes âgées ainsi qu'au malades.

Programmes Spécifiques d'évaluation des risques "Nanos"

NANODERM (<http://www.uni-leipzig.de/~nanoderm/index.html>) Objectif : Evaluer le passage de nanoparticules à travers la peau

NANOPATHOLOGY (<http://www.nanopathology.it/paginei/nanopathology.htm>) Objectif : Etudier les interactions nanoparticules-hôte (corps humain)

NanoSafe et NANOSAFE2 Objectif : Évaluation et gestion des risques pour une production industrielle de nanoparticules (NP) sécurisée : détection et caractérisation des NP ; création d'une base de données sur la toxicologie des NP ; technologies de production sécurisée ; aspects sociaux et environnementaux, et réglementation.

SILICERAM (<http://www.ceram.com/siliceram.htm>) Objectif : Evaluer les effets toxicologiques des interactions silice-céramiques.

Programmes Spécifiques dans le domaine de la Santé et Nano (Thérapie, Capteurs, Vecteurs...)

GANANO (<http://www.ganano.eu.org/>) Objectif : développer un nouveau système intégré à base de nitrite de Gallium, afin d'effectuer des analyses rapides physico-chimiques et biologiques des métabolites, des produits pharmaceutiques, des protéines, et des agents pathogènes dans des gouttes aqueuses de taille nanométrique et picométrique.

NAIMO Projet de 4 années pour contribuer au développement de produits nouveaux tels que des chips électroniques organiques, des sensors, des cellules solaires flexibles et des structures magnétiques, utilisables dans les domaines de la santé, du bien-être, de la sécurité et de l'environnement .

NANO BIOTECH Etude systématique de l'influence de la forme chimique et topographique sur l'adsorption des protéines et son application dans le champs des biomatériaux, des tissus artificiels et de biosensors.

NANOCAPS (<http://www.sintef.no/static/mt/nanocaps/main.htm>) Développement de nouvelles technologies basées sur la micro-encapsulation, afin de résoudre les problèmes industriels relatifs à la diffusion contrôlée de produits chimiques.

NANOCHEMSENS (<http://www.nanochemsens.uni-duesseldorf.de/>) Identification et développement d'outils d'étude des surfaces adaptés et des procédés nanotechnologiques des futures nanomatériaux pour la sensibilité chimique, en étudiant les phénomènes nanométriques qui contrôlent les sensors nanostructurés et les surfaces fonctionnalisées

NANOCUES (<http://www.nanocues.org/>) Nanotechnologies et biotechnologies des surfaces pour la fabrication et la caractérisation de bio-interfaces artificielles, ainsi que de technologies de cellules souches pour leur variabilité de fonctions et leur usage potentiel dans de nouvelles applications thérapeutiques.

NANOS4 (http://www.infm.it/Uk/Projects/EU_FP6/2004/nanos4.html) Développement d'un système de sensor metaloxide gazeux innovant basé sur des sensors mesoscopiques..

INTELLIDRUG (<http://www.intellidrug.org/>) Développement d'un micro et nano système intelligent afin d'offrir une approche alternative pour le traitement des addictions et des maladies chroniques.

Potentiel de recherche en France et les manques (*Jorge BOCZKOWSKI*)

Peu de structures publiques en France travaillent sur la thématique « nanoparticules – santé ». Un certain nombre de laboratoires s'intéressent aux effets biologiques des PUF issues de la pollution atmosphérique, mais très peu d'entre eux affichent actuellement une thématique autour des effets des nanoparticules fabriquées par l'homme. Il faut signaler la participation d'unités de recherche de l'INSERM au réseau Nano2life (<http://nano2life.epfl.ch/>), mais ce réseau ne s'intéresse pas de manière directe aux effets de nanoparticules dans une optique toxicologique. En fait, l'objectif de Nano2life est de fédérer les laboratoires publics et privés européens travaillant dans les domaines des nanotechnologies et des biotechnologies. Par ailleurs, l'Office Parlementaire d'Evaluation des Choix Scientifiques et Technologiques (OPECST) a établi en 2004 un rapport intitulé « Nanosciences et progrès médical » (<http://www.senat.fr/rap/r03-293/r03-293.html>) Dans ce rapport les utilisations médicales de nanotechnologies sont abordées, avec un chapitre consacré aux risques potentiels de nanoparticules.

Le recensement suivant est le plus exhaustif possible, mais il y a peut être des structures non relevées.

Laboratoires français connus pour travailler sur la mesure de l'exposition aux PUF :

INRS

- Programme EXPAU dédié au volet exposition des risques professionnels liés aux PUF. Au sein du département métrologie des polluants de l'INRS, le laboratoire de métrologie des aérosols (LMA) s'intéresse au développement de nouvelles méthodes de mesures pour caractériser l'exposition professionnelle. Programme piloté par Olivier Witschger. (<http://www.inrs.fr/> puis chercher EXPAU).

Laboratoires français connus pour travailler sur les effets des PUF :

INSERM

- Equipe dirigée par Jorge Boczkowski (Unité 700, Paris) : effets des PUF et les nanotubes de carbone industriels sur la balance oxydants/antioxydants et protéases/antiprotéases pulmonaire.
- Equipe dirigée par Marie Claude Jaurand (INSERM E0337, Créteil) : particules et mesothéliome

Université Paris 7

- Laboratoire de Toxicologie Cellulaire, dirigée par Franceline Marano (Campus de Jussieu, Paris) : équipe dirigée par Armelle Baeza-Squiban, s'intéressant aux effets des PUF sur la réponse inflammatoire de l'épithélium bronchique.

INERIS

- Département de Toxicologie Expérimentale, dirigée par Frédéric Bois : équipe de Toxicologie pulmonaire et Immunotoxicologie dirigée par Ghislaine Lacroix, s'intéressant aux effets de PUF la réponse inflammatoire pulmonaire.

CNRS

Equipe dirigée par Silvana Fiorito (Groupe de Dynamique des phases condensées (GDPC) – UMR de l'Université Montpellier II (UMII) et du CNRS, département Sciences Physique et Mathématique) : étude des effets des nanotubes de carbone industriels sur la réponse inflammatoire *in vitro*, sur des monocytes humains provenant de donneurs sains. Cette équipe fait partie du Groupe De Recherches Européen (GDR-E) Nano-E n°2756 « Science et application des nanotubes, <http://www.cnrs-imn.fr/GDRE> » piloté par Annick Loiseau (LEM, CNRS-Onera, France, Directrice) et Patrick Bernier (GDPC, CNRS, France, Directeur Adjoint).

Les différents laboratoires cités ci-dessus utilisent des techniques *in vitro* sur cellules en culture, ou *in vivo*, en administrant les particules aux animaux par voie intra-trachéale ou inhalatoire

Certaines équipes collaborent déjà entre eux (F. Marano – J. Boczkowski) ou vont collaborer dans l'avenir (J. Boczkowski- G. Lacroix). Ces collaborations se font dans le cadre de réseaux nationaux ou internationaux (Projet Nanosafe2, par exemple).

En complément du projet européen Nanosafe2, une structure miroir a été créée à l'avantage des acteurs français. Cette structure s'appuie sur l'Association ECRIN, dans le cadre de sa mission de

mise en synergie de la recherche publique et privée. Dans cette perspective, des groupes de travail ont été lancés sur les quatre thématiques suivantes :

- * techniques de détection et de caractérisation des nanoparticules ;
- * études de toxicologie des nanoparticules;
- * intégration de systèmes industriels sécurisés;
- * aspects sociétaux et environnementaux.

Chacun de ces groupes a parmi ses objectifs :

- * le rapprochement des différents acteurs pour favoriser une connaissance mutuelle et éviter les initiatives redondantes;
- * l'identification de sujets prioritaires nécessitant des actions de recherche en partenariat
- * la création de consortiums de recherche réunissant acteurs publics et privés.

Des informations complémentaires sont disponibles sur le site web d'ECRIN <http://www.ecrin.asso.fr> et sur le site <http://www.nanomatériauxetsecurite.fr>.

A l'évidence, il existe un fort potentiel de recherche en France, et une structuration en réseau des laboratoires de recherche et des industriels est en cours. Cependant, nombre des initiatives précédentes disposent seulement d'un financement ponctuel, et sont, de ce fait, fragiles. Il nous paraît donc indispensable qu'elles puissent trouver des soutiens stables pour les pérenniser.

Priorités envisageables en matière de recherche (*Jorge BOCZKOWSKI, Eric GAFFET, Alain LOMBARD*)

L'ensemble de documents présentés montre que :

- Il existe des raisons de penser que les nanoparticules fabriquées par l'homme puissent avoir des effets délétères sur la santé. Ces effets intéressent aussi bien les travailleurs du secteur nanotechnologies /nanomatériaux que la population en général.
- Les déterminants de ces effets sont complexes et feraient intervenir différentes caractéristiques des particules telles que le nombre, la surface, la composition, la forme, l'état de surface . Mais il est possible que d'autres paramètres interviennent.
- Pour maîtriser ces effets potentiels, il faut pouvoir quantifier et caractériser ces particules quand elles sont en suspension, car la voie respiratoire est une voie majeure de pénétration de nanoparticules dans l'organisme.
- Il existe actuellement un manque de données expérimentales sur ces différents points.

Dans ce contexte, il nous semble que les axes de recherche à développer sont les suivants :

- Recenser toutes les recherches dans le domaine « PUF/nanoparticules-santé » dans le cadre français (qu'il s'agisse d'instituts de recherche publics et du secteur industriel) et dans le cadre européen.
- Favoriser les coopérations des équipes de recherche français travaillant, en l'ignorant parfois, sur des thèmes similaires.
- Etablir une coopération entre le secteur industriel producteur des nanoparticules et les laboratoires de recherche.
- Etablir des collaborations au niveau européen et mondial afin de conforter les efforts de recherche.
- Créer un observatoire scientifique français qui regroupe toutes les informations dans le domaine de l'impact santé et environnemental des PUF/nanoparticules d'origine naturelle et industrielle, afin de faciliter les prises de décisions sanitaires et politiques. Une première réunion en ce sens est prévue lors de la journée ECRIN du 23 mars.
- Maîtriser les procédés d'élaboration reproductibles de nanoparticules et standardiser les méthodes de détection et d'étude des leurs effets biologiques afin d'établir une méthodologie stricte et reproductible (voir chapitre 3).
- Développer une recherche « translationnelle » allant de la cellule à l'homme, c'est à dire de la recherche biologique à la recherche clinique en population générale et en milieu professionnel (voir chapitres 3b et 3C pour une description détaillée de priorités et des axes de recherche à développer). La coopération de tous les acteurs principaux (chimistes, physiciens, biochimistes, biologistes, toxicologues, hygiénistes du travail et médecins du travail) est indispensable pour mener à bien cette démarche.

La France par le pôle Minatec est en pointe dans le domaine technologique, cependant au niveau de l'étude de l'impact santé et environnement des nanotechnologies /nanomatériaux, un besoin de connaissances se fait sentir.

Au vu de l'ensemble de priorités citées et du nombre de laboratoires travaillant actuellement dans le domaine « PUF/nanoparticules-santé » en France, il nous semble qu'il faut développer fortement le potentiel de recherche dans ce domaine.

Ceci devrait aboutir à la constitution d'un pôle de compétence national, tout en favorisant la participation dans des réseaux internationaux.

Références

Rapports

Billon A, Dupont JL, Ghys G (2004). *Le financement des nanotechnologies et des nanosciences. L'effort des pouvoirs publics en France : Comparaisons internationales (Rapport 2004-002)*, Ministère de la Jeunesse, de l'Éducation Nationale et de la Recherche.

European Commission (2004), *Community Health and Consumer Protection : Nanotechnologies : Preliminary Risk analysis on the Basis of a Workshop organized in Brussels on 1-2 March 2004 by the Health and Consumer Protection Directorate General of the European Commission.*

BIA –Germany (2003): *Bia-Workshop "Ultrafeine Aerosole an Arbeitsplatz Bia-Report 7/2003*

HSE –UK : Nanoparticles (2004): *An occupational hygiene review research ; report 274 prepared by the Institut of Occupational Medicine*

Articles originaux

Effets des PUF sur la santé

Aust AE, et coll. (2002). *HEI Report N 110, décembre 2002.*

Brown DM, et coll. (2001). *Toxicol Appl Pharmacol* 175(3) 191-199.

Daigle CC, et coll. (2003). *Inhal Toxicol* 15(6) 539-552.

Dick CA, et coll. (2003). *Inhal Toxicol* 15(1) 39-52.

Ferin J, Oberdörster G, Penney DP (1992). *Am J Respir Cell Mol Biol* 6(5) 535-42.

Ferin J, et coll. (1991). *J Aerosol Med* 4(1) 57-68.

Höhr D, et coll. (2002). *Int J Hyg Environ Health* 205(3) 239-244.

Huang YC, et coll. (2003). *Inhal Toxicol* 15(4) 327-342.

Lam CW, et coll. (2004). *Toxicol Sci* 77(1) 126-34.

Murphy SA, et coll. (1998). *Life Sci* 62(19) 1789-99.

Oberdörster E (2004). *Environ Health Perspect* 112(10) 1058-1062.

Oberdörster G (1996). *Inhal Toxicol* 8 (Suppl) 73-89.

Oberdörster G, et coll. (1990). *J Aerosol Sci* 21(3) 384-387.

Oberdörster G, Yu CP (1990). *J Aerosol Sci* 21 (Suppl. 1) S397-S401.

Oberdörster G, et coll. (1992).. *Environ Health Perspect* 97, 193-9.

Oberdörster G, Ferin J, Lehnert BE (1994). *Environ Health Perspect* 102 (Suppl 5) 173-179.

Oberdörster G, et coll. (2000). *Res Rep Health Eff Inst* 2000; (96) 5-74; disc. 75-86.

Oberdörster G, et coll. (2004). *Inhal Toxicol* 16(6-7) 437-445.

Pekkanen J, et coll. (2002). *Circulation* 106(8) 933-8. Comment in: *Circulation* 2002, 106(8), 890-2.

Penttinen P, et coll. (2001a). *Environ Health Perspect* 109(4) 319-23.

Penttinen P, et coll. (2001b). *Eur Respir J* 17(3) 428-35.

Peters A, et coll. (1997). *Am J Respir Crit Care Med* 155(4) 1376-83

Tran CL, et coll. (2000). *Inhal Toxicol* 12(12) 1113-26.

Warheit DB, et coll. (2004). *Toxicol Sci* 77(1) 117-25.

Risque d'explosion induit par la manipulation de PUF

Bartknecht W. (1989), *"Dust Explosions : Course, Prevention, Protection"*, Springer-Verlag, ISBN 0 387 50100 2.

Eckhoff RK. (1991), *"Dust explosions in the process industries"*, Butterworth-Heinemann, Oxford.

Field P. (1982), *"Dust explosions"*, *Handbook of Powder Technology*, vol.4, Elsevier, ISSN 0167-3785.

Masson F. (1998), *"Explosion d'un silo de céréales"*, Rapport de synthèse, INERIS EMA-FMs-98-21FP30-07/07/98.

Pineau JP, Proust Ch, Ronchail G. (1993), *"Explosions de poussières : estimation du risque"*, Sécurité, Sciences et Techniques, vol. 1. **Proust Ch.** (1999), *"Explosions de poussières : études expérimentales des phénomènes et modélisation"*, Séminaire européen sur " Les explosions de poussières ", Metz, Palais des Congrès, Avril 1999.

Proust Ch. (2003), *"Les explosions de poussières"*, cours de 3 eme cycle, ENSI de Bourges.

Proust Ch. , Boudalaa M. (2001), "Inflammation des nuages de poussières par des étincelles et des surfaces chauffées", *Récents progrès en génie des procédés*, vol. 15, pp. 63-72.

Proust Ch. (2004), « Formation, inflammation, combustion des atmosphères explosives (ATEX) et effets associés », mémoire pour obtenir le diplôme d'Habilitation à diriger des recherches, INPL, Université de Lorraine

Nouvelles technologies d'analyse de la toxicité des polluants de l'environnement

Groupe de travail

Robert Barouki (coordinateur), PU-PH de Biochimie, INSERM UMR-S 490, Université Paris5

Roger Rahmani, DR2 INSERM, INRA, Sophia Antipolis

Jean-François Savoure, DR2 INSERM, INSERM UMR-S 530, Université Paris5

Olivier Fardel, PU-PH d'Hématologie, INSERM UMR-S 620, Université de Rennes 1

Thierry Pineau, DR2 INRA, INRA, Toulouse

Jean-Marc Pascussi, CR2 INSERM, INSERM UMR-S 632, Montpellier

Patrick Balaguer, CR1 INSERM, INSERM UMR-S 540, Montpellier

L'objectif des travaux dans le domaine environnement-santé est d'établir une relation entre un facteur environnemental et l'apparition ou l'aggravation d'une pathologie. Des études épidémiologiques sont nécessaires et peuvent se focaliser dans un premier temps sur des populations particulièrement exposées que ce soit pour des raisons professionnelles, accidentelles ou géographiques. La difficulté est par la suite de définir le risque encouru par la population générale exposée à de faibles doses, d'identifier et de mesurer l'exposition et enfin, d'établir une relation de cause à effet (Griffith et coll, 2002, Patterson et coll., 2002). Par ailleurs certains travaux épidémiologiques peuvent souffrir de biais ou manquer de puissance. La toxicité rapportée peut être due à des mélanges de composés, et il n'est pas aisé de savoir quel est le composé (ou le groupe de composés) responsable de l'effet. Pour l'ensemble de ces raisons, il est nécessaire d'établir la vraisemblance biologique d'un effet pathologique lié à l'environnement, dans le but de définir le véritable risque engendré (Hill, 1968, Meek et coll, 2003). La contribution de la toxicologie n'est pas équivalente dans toutes les études, mais elle devient primordiale lorsque les critères d'ordre épidémiologiques ne sont pas suffisamment puissants.

La mise en évidence des mécanismes d'action des toxiques joue aussi un rôle essentiel dans la recherche de marqueurs d'exposition, dans la prédiction d'un effet toxique, et intervient dans un objectif de prévention (Vainio, 2001). Dans ce cadre, une bonne connaissance des mécanismes d'action a aussi un rôle économique pour permettre aux industriels d'éviter de diffuser des composés potentiellement dangereux.

L'apport de la toxicologie expérimentale est de plusieurs ordres:

- **sur le plan cognitif** : comprendre les modes d'action des polluants et établir la vraisemblance biologique de la relation cause-effet ;
- **en recherche appliquée** : meilleure identification des risques et des polluants impliqués et détermination de marqueurs d'exposition, de tests de criblage, des facteurs de susceptibilité individuelle y compris génétiques, etc. Elle est à ce titre complémentaire des approches épidémiologiques et de sciences sociales ;
- **une démarche de toxicologie prédictive** : la définition du mode d'action permet de prévoir la toxicité d'autres composés ; une approche préventive en santé publique est alors possible.
- **une approche pharmacologique et thérapeutique** : cet aspect est souvent négligé mais une meilleure connaissance des mécanismes d'action permet d'envisager des molécules pharmacologiquement actives ;
- **sur le plan économique et légal** : l'identification des risques et de leurs mécanismes permet d'éviter la fabrication et la diffusion de composés industriels à risque. Cette démarche intervient aussi dans les conflits d'ordre juridiques qui sont probablement appelés à se multiplier dans l'avenir.

Rappels sur les différents polluants et contaminants

Différentes composantes de l'environnement peuvent affecter la santé humaine ou animale

1- L'environnement chimique comme les métaux lourds, les pesticides et la dioxine.

2- L'environnement physique comme les rayonnements ionisants, radiations UV, le radon.

3- Les infections virales ou bactériennes qui sont aussi à l'origine de plusieurs types de cancers.

La contamination chimique présente une très grande diversité qui va en s'accroissant. Une discussion des différentes formes de pollution chimique et des principaux modes d'action est rajoutée en annexe.

Les grandes questions posées à la toxicologie expérimentale

De très nombreuses questions restent ouvertes dans cette discipline. Sans être restrictif, les principales questions sont :

- Définir les **mécanismes d'action des toxiques** ; dans certains cas ces mécanismes sont inconnus, dans d'autres cas, un mécanisme est proposé mais il pourrait ne pas être unique ni même le mécanisme essentiel. Rappelons qu'un composé peut avoir plusieurs types de récepteurs et de cibles dans une cellule.
- Comprendre et modéliser les effets à **faible dose et au long cours**, ce qui constitue une réelle difficulté sur le plan expérimental.
- Comprendre les effets des **mélanges de toxiques** : si les mécanismes d'action de composés individuels commencent à être connus, la toxicité des mélanges reste peu étudiée. Or, elle est essentielle, les contaminations étant pratiquement toujours multiples.
- Comprendre la **susceptibilité individuelle** aux polluants, qu'elle soit d'origine génétique ou non (médicamenteuse, physiologique ou pathologique).
- Améliorer l'**identification des polluants** et rechercher des **marqueurs d'exposition**.
- Définir une **approche pharmacologique et thérapeutique**.

Les difficultés de la toxicologie expérimentale

La toxicologie, comme d'autres disciplines expérimentales, s'est heurtée à un certain nombre de difficultés qui sont résumées ci-dessous :

- la transposition des observations réalisées dans des modèles in vitro, des modèles cellulaires ou des modèles animaux, à la situation chez l'homme (Meek et coll, 2002, Haber et coll, 2001, Daston et coll, 2003).
- La lourdeur de la démarche expérimentale classique très focalisée sur l'étude d'une cible bien déterminée. Cette démarche est fondée sur des hypothèses qui peuvent s'avérer erronées et donc être peu rentables sur le plan des applications. Cette approche n'est pas spécifique à la toxicologie et elle est parfaitement justifiée. Elle a pu donner l'impression aux autres acteurs du domaine environnement-santé d'un certain éloignement par rapport aux préoccupations des pouvoirs publics.
- Les difficultés à aborder les problèmes des faibles doses et des expositions au long cours.
- Un manque de coordination et de moyens au niveau national.

Les nouvelles technologies

Nous assistons depuis quelques années à une explosion des technologies dans le domaine de la biologie. Ces approches ont un impact en toxicologie et pourraient permettre de répondre aux questions soulevées ci-dessus. Nous pouvons les classer de la manière suivante :

- **Génomique, Protéomique, Métabonomique**. Ces approches consistent en l'exploration à grande échelle du génome, transcriptome, protéome, métabolome. Toutes ces disciplines ont pour point commun de permettre d'étudier des milliers sinon des dizaines de milliers de gènes, ARNm, protéine, métabolites. Elles ne sont donc pas fondées sur des hypothèses restrictives et elles peuvent conduire à la découverte de nouvelles cibles de toxiques qui n'étaient pas attendues a priori. Elles ont donc un intérêt cognitif certain. Certaines de ces techniques sont applicables à l'homme à partir d'échantillons sériques, et peuvent de ce fait permettre la mise au point de marqueurs d'exposition. Ces techniques sont appliquées dans tous les champs de la biologie et de la santé et ont déjà été utilisées en toxicologie (Cunningham et coll, 2003 ; Olden, 2004). La France a du retard dans ce domaine par rapport aux Etats Unis.
- L'amélioration constante des **méthodes analytiques** qui permettent l'identification de polluants à de faibles doses.
- **L'imagerie** qui permet d'une part une meilleure définition des cibles cellulaires des toxiques, mais aussi la fabrication de modèles cellulaires et animaux révélateurs de toxicité ou éventuellement de modèles sentinelles dans l'environnement.
- **Transgénèse et humanisation des modèles animaux** : un des points faibles de l'approche expérimentale en toxicologie est la difficulté de transposer des observations chez l'animal à l'homme.

L'expression de gènes humains dans des animaux transgéniques devrait rapprocher ces animaux de la situation humaine et améliorer la pertinence de l'approche expérimentale (Gonzalez, 2003).

• **Méthodologies *in silico*** : l'accumulation de données sur la structure et les effets de composés chimiques a suscité des approches informatiques pour tenter de prédire la toxicité des polluants à partir de leur structure et leurs propriétés physico-chimique.

Etat de la Recherche en France

Après avoir été longtemps descriptive, la toxicologie est progressivement devenue de plus en plus mécanistique, suivant en cela, avec un certain retard, d'autres disciplines. Les domaines qui ont connu cette évolution ont été ceux de la génotoxicité, du métabolisme des xénobiotiques, de la signalisation en toxicologie et des modèles cellulaires ou animaux. La recherche fondamentale est réalisée dans les EPST, CNRS, INSERM et INRA et à l'université ; une recherche plus appliquée est organisée dans les instituts plus spécialisés.

L'utilisation des nouvelles technologies a débuté en France, mais de manière peu coordonnée dans le domaine de la toxicologie environnementale. Plusieurs points sont à soulever :

• Les technologies de génomique et de protéomique sont déjà appliquées à la toxicologie du médicament en raison de l'investissement important de l'industrie pharmaceutique dans ce domaine. Il n'y a pas le même investissement dans le domaine de la toxicologie environnementale.

• Sur le plan international, il existe des initiatives dans ce domaine aux Etats unis, en Europe et au Japon. Ce sont les Etats-Unis qui sont les plus en avance avec la création du National Center for Toxicogenomics et de l'ILSI/HESI (voir annexe I et article en annexe IV). Les programmes américains sont très structurés avec une première étape de preuve de concept suivi d'une généralisation du programme. On ne peut pas cependant séparer les problèmes de toxicologie de l'environnement de ceux de la toxicologie du médicament, ce qui semble assez raisonnable.

• En France comme en Europe, il existe des plateformes de génomique et de protéomique. Une première évaluation semble indiquer que ces plateformes ne sont pas saturées.

Des priorités pour l'avenir

Nous pouvons définir les priorités méthodologiques en précisant d'abord les priorités en termes d'objectifs scientifiques et de santé publique :

• **La toxicologie mécanistique au service de la toxicologie préventive** : l'objectif est de mieux comprendre les grands mécanismes toxiques et définir une classification des toxiques pour d'une part mieux prédire la toxicité des composés et , d'autre part, proposer des méthodes de prévention et, éventuellement, d'intervention thérapeutique. A ce stade, il semble que les **techniques de génomique** principalement et de protéomique sont les mieux adaptées (Cunningham et coll, 2003) . Signalons qu'il existe plusieurs plateformes de génomiques en France.

• **Prédire la toxicité chez l'homme grâce à des modèles** : les modèles *in vivo* sont théoriquement les mieux adaptés. Cependant ils souffrent de la difficulté de transposer à l'homme les observations chez l'animal et des restrictions éthiques à l'utilisation des animaux (Lock et Smith, 2003). En ce qui concerne le premier point un effort d'humanisation des **modèles animaux par transgénèse** pourrait être entrepris (humanisation des récepteurs, du métabolisme dans un premier temps). Cet effort devrait intéresser l'industrie pharmaceutique. En ce qui concerne les aspects éthiques qui sont réels, le développement de **modèles cellulaires** adaptés pourrait être poursuivi. Enfin, les approches prédictives *in silico* pourraient être mieux définies et organisées.

• **Mettre au point des biomarqueurs d'exposition**. Le développement de la **protéomique et de la métabolomique** sur des fluides biologiques (sang, urines, salive..) pourrait être intéressant pour définir de nouveaux marqueurs chez l'homme. Des marqueurs peuvent aussi être développés chez des animaux sentinelles. Les méthodes analytiques peuvent aussi être développées.

Comment s'organiser ?

L'application des nouvelles technologies à la toxicologie environnementale nous semble nécessaire. Les principes d'une démarche française pourraient être les suivants :

• **Intégrer les efforts français avec ceux de l'Europe**, et éventuellement faire partie d'efforts internationaux dans ce domaine. Un point détaillé de l'ensemble des actions européennes et de la participation française devrait être entrepris.

• Pour faciliter cette évolution, organiser les efforts français en créant un **réseau interorganismes** tendant à rationaliser la recherche au niveau français. Des plateformes sont disponibles et pourraient être utilisées dans cet objectif. La création d'un réseau faciliterait la participation à des programmes européens et la définition des priorités du 7^e PCRD. Ce réseau pourrait développer quelques actions communes, par exemple les modèles animaux et cellulaires, partager les données de la génomique et de la protéomique.

• **Financer la recherche dans ce domaine** : les nouvelles technologies sont coûteuses et nécessitent des financements supplémentaires. Ces financements peuvent compléter des efforts financiers faits par ailleurs (comme l'utilisation des puces à ADN à Evry pour lequel un financement partiel est proposé). Plusieurs conditions doivent être réunies pour que le financement de laboratoires (ou de réseaux) soit efficace. D'une part, les objectifs précis de la recherche doivent être énoncés et la progression de la recherche vers ces objectifs doit être régulièrement évalué. Le programme devrait encourager les applications des observations fondamentales. D'autre part, et en contre partie, ce financement doit être durable, important et complet, tenant compte notamment de la nécessité du personnel.

• **Quelques Centres de Recherche en France déjà impliqués et pouvant participer à cet effort**

- Rennes: INSERM, Université de Rennes1 : A Guillouzo, O Fardel, B Jégou, C Pineau

- Toulouse: INRA : T Pineau, P Galtier, J-P Cravedi

- Montpellier: INSERM : P Maurel, J-M Pascussi, P Balaguer

- Bordeaux : CNRS Université de Bordeaux : H Budzinski, J-F Nordmann

- Sophia Antipolis: INRA : R Rahmani

- Paris: INSERM Universités Paris 5 et 7 : R Barouki, P Beaune, F Marano, J-F Savouret, M Aubier, J Boczkovski

- CEA : Saclay (M Tolédano) et plateforme de Génomique fonctionnelle d'Evry (X Gidrol), et Grenoble (T Rabilloud)

Participation de plusieurs plateformes de génomique et de protéomique

Références

Cunningham ML et coll. Workshop overview: use of genomic data in risk assessment. *Toxicol Sci* 2003, 73: 209-215

Daston GP et coll. Uncertainties for endocrine disruptors: our view on progress. *Toxicol Sci* 2003, 74: 245-252

Gonzalez FJ. Role of gene knockout and transgenic mice in the study of xenobiotic metabolism. *Drug Metab Rev.* 2003, 35:319-35

Griffiths CW et coll. What to do about low doses: a bounding approach for economic analysis. *Risk Anal* 2002, 22: 679-688

Haber LT et coll. Application of mechanistic data in risk assessment: the past, present and future. *Toxicol Sci* 2001, 61: 32-39

Hills AB. The environment and disease: association or causation? *Proceed Royal Soc Med* 1965, 58 : 295-300

Lock EA and Smith LL. The role of mode of action studies in extrapolating to human risks in toxicology. *Toxicol Lett* 2003, 140-141: 317-322

Meek ME et coll. A framework for human relevance analysis of information on carcinogenic mode of action. *Crit Rev Toxicol* 2003, 33: 591-653

Olden K. Genomics in environmental health research--opportunities and challenges. *Toxicology.* 2004, 198:19-24

Patterson J et coll. Human health risk assessment: selected Internet and www resources. *Toxicology* 2002, 173: 123-43

Vainio H. Use of biomarkers in risk assessment. *Int J Hyg Environ Health* 2001, 204: 91-102

Coordonnées des participants et quelques centres de recherche dans le domaine (ne comprend pas les aspects génotoxicité traités ailleurs)

Roger Rahmani

Toxicologie cellulaire, moléculaire et génomique

UMR 1112, Centre de Recherches INRA
400, route des Chappes, BP167
06903, Sophia Antipolis cedex
rahmani@antibes.inra.fr

Jean-Francois Savouret, PhD, DR,
Unité de recherche mixte UMR-S-530
Inserm U530-U.Paris 5
Centre Universitaire-UFR Biomédicale
45 rue des Saints-Pères
75006 Paris, France
Tel. + 33 (0)1 42 86 38 71
Fax + 33 (0)1 42 86 38 68
jean-francois.savouret@univ-paris5.fr

Olivier Fardel
INSERM U620
Faculté de Pharmacie
2 Avenue du Pr L. Bernard
35043 Rennes
tel: 02 23 23 48 80
e-mail: olivier.fardel@univ-rennes1.fr

Pascussi Jean Marc, PhD
INSERM U632, physio-pathologie hépatique
1919 route de Mende
Montpellier
F-34293, France
tel: 33 (0)4 67-61-33-65
fax: 33(0)4 67-52-36-81
pascussi@montp.inserm.fr

Thierry PINEAU
Equipe de Pharmacologie Moléculaire
Laboratoire de Pharmacologie et Toxicologie
INRA
180 Chemin de Tournefeuille
31931 Toulouse Cedex 09
tpineau@toulouse.inra.fr
Tél.: 05 61 28 53 95
Fax.: 05 61 28 53 10

Charles PINEAU
Chargé de Recherche INSERM
GERM - INSERM U. 435
Campus de Beaulieu - Université de Rennes I
35042 Rennes Cedex - France
Tel : +33 (0)2 99 28 16 32
Fax : +33 (0)2 99 28 16 13
E-mail charles.pineau@rennes.inserm.fr

Patrick Balaguer
INSERM U540,
60 rue de Navacelles,
34090 Montpellier
tel :0467043704.
fax :0467540598.
Email : balaguer@montp.inserm.fr

Robert Barouki
INSERM UMR-S 490
Université René Descartes
45 rue des Saints Pères
75270 Paris cedex 06
tel: 33 1 42 86 20 75
fax: 33 1 42 86 20 72
robert.barouki@univ-paris5.fr

Point sur le financements à l'étranger (en particulier aux Etats Unis)

Roger Rahmani

Aux US, le NIEHS (National Institute of environmental Health Sciences) a créé en Septembre 2000 le NTC (National Center for Toxicogenomics) qui a pour mission de coordonner une recherche nationale en toxicogénomique, avec 5 objectifs : Faciliter les applications technologiques pour l'étude des gènes et des protéines, Comprendre les relations entre les expositions environnementales et les maladies humaines, Identifier des biomarqueurs de maladies ou d'exposition aux substances toxiques, Développer la bioinformatique pour extraire les données pertinentes, Constituer une banque de données publique sur les effets biologiques des substances toxiques. La FDA est également fortement impliquée.

Aux US également, L'ORD (Office of Research and Development) vient d'initier un nouveau programme sur " Computational Toxicology » pour mieux comprendre les relations entre les sources de pollution, l'exposition aux produits environnementaux et les effets sur l'homme. Ces recherches intègrent la bioinformatique, les technologies de biologie moléculaire et la chimie http://www.epa.gov/comptox/publications/comptoxframework06_02_04.pdf

Toujours aux US ! ! ! , un « non-profit institut », l'ILSI (International Life Science Institute), regroupant des membres du secteur académique, des industriels et des représentants des autorités d'enregistrement est en charge notamment d'études d'évaluation et de validation en toxicologie, et travaille activement sur la thématique de la toxicogénomique. L'HESI (Health and Environmental Sciences Institute), qui est une branche de l'ILSI a créé en 1999 un comité technique sur la génomique, intitulé « HESI Technical committee on the application of genomics to mechanism based risk assessment ». Dans ce programme, les membres du comité (en 2003) sont composés de la grande majorité des industriels du médicament : les institutions publiques européennes ne sont représentées que par l'agence européenne pour l'évaluation des médicaments (EMA). Exceptés, un institut hollandais et 1 institut anglais, tous les partenaires sont américains. Il existe néanmoins des relations étroites avec l'EMBL-EBI pour la gestion des données transcriptome.

L'objectif de ce comité technique est de développer un programme de collaboration scientifique, d'identifier les problèmes majeurs posés par l'émergence de l'application de la toxicogénomique à l'évaluation de la sécurité des médicaments. 4 groupes de travail ont été mis en place : génotoxicité, hépatotoxicité, néphrotoxicité, développement d'une base de données. Mi-2004, les axes d'étude suivants ont été définis, suite aux premiers résultats: - survey and publication on state of Science and Application of Genomics, - baseline animal database, - elucidating genotoxic mechanisms of action, - use of toxicogenomics for identifying mechanism-based markers of toxicity, - HESI-EBI array express initiative database steering team, - Meta-data standards initiatives forum.

Un autre consortium a été récemment (2002) créé aux Etats-Unis : Toxicogenomics Research Consortium : <http://www.niehs.nih.gov/dert/trc/intro.htm> Ce consortium financé par le NIEHS National Institute of Environmental Health Sciences Grant (5 ans 37 M\$) regroupe 8 universités américaines. http://www.nature.com/cgita/DynaPage.taf?file=/nature/journal/v415/n6869/full/nj6869-04a_fs.html. Pour information, 2 programmes sont en cours d'être lancés en toxicogénomique (relation environnement et santé humaine): -*Gene-Environment Interactions – Toxicogenomic Biomarkers of Benzene Exposure; Collaborative studies on the health effects of arsenic in pregnant women and children in the US and Southeast Asia*. D'autres programmes se mettent en place pour l'étude des affections respiratoires d'origine environnementale http://www.separationsnow.com/basehtml/SepH/1,1353,6-1-4-1-0-news_detail-0-710,00.html et des perturbateurs endocriniens http://es.epa.gov/ncer/rfa/current/2003_comptox.html

Au plan européen, l'industrie pharmaceutique s'implique/développe de plus en plus ces nouvelles méthodes. Au niveau des institutions, l'EMA va constituer un groupe de travail sur les « omics » et l'ECETOC (European Centre for Ecotoxicology and Toxicology of Chemicals) a publié un document faisant l'état des lieux sur ces nouvelles techniques dans le cadre de l'évaluation de la sécurité des produits chimiques.

Un exemple des efforts américains et européens dans le domaine des perturbateurs endocriniens (non spécifiquement axés sur les nouvelles technologies)

Jean-François Savouret

Le PCRD6 et les USA ont déjà de nombreux projets visant à estimer l'intensité de la pollution ambiante par les produits industriels et maintenant les rejets de produits pharmaceutiques.

Aux USA, le National Institute of Health (NIH) a créé le " National Toxicology Program's Center for the Evaluation of Risks to Human Reproduction" qui est chargé d'évaluer le problème de la perturbation endocrinienne, de générer des données et de proposer des modalités d'action. Un programme de détection des perturbateurs endocriniens a été spécifiquement lancé dans le cadre du programme de qualité de la nourriture (Food Quality Protection Act) de 1996. Au niveau fédéral, la perturbation endocrinienne est un des cinq points du Comité de l'environnement et des ressources naturelles. En 1997, le Centre International de Recherche contre le Cancer (CIRC/IARC) publie un document-clé, la monographie 69 qui définit les dioxines comme des cancérigènes animaux et humains avérés (<http://www-cie.iarc.fr/htdocs/monographs/vol69/dioxin.html>). A la suite des décisions de 1996, l'agence américaine EPA (US Environmental Protection Agency) a formé un comité des tests sur les perturbateurs endocriniens (EDSTAC, www.epa.gov/scipoly/oscpendo/edspoverview/edstac.htm) qui a rendu son rapport en 1998. En conséquence, l'EPA a lancé en 2002 une campagne nationale de tests pour détecter la perturbation endocrinienne au niveau de l'axe hypothalamo-hypophysogonadique et thyroïdien, du métabolisme hormonal et de l'activité des récepteurs nucléaires (www.epa.gov/scipoly/oscpendo/edspoverview/primer.htm).

Le CEFIC (conseil européen de l'industrie chimique) a lancé le LRI ou Long Range Research Initiative, (www.cefic-lri.org) en matière de santé et environnement. Ce programme a pour but de coordonner la recherche publique et privée dans ce domaine et de créer une structure au niveau européen.

La présence de xénobiotiques industriels et de composés pharmaceutiques dans l'environnement fait l'objet d'actions européennes multiples depuis le 5ème Programme commun de recherche et développement (PCRD). Celui-ci comprend un groupe de quatre grands programmes dénommé CREDO (www.credocluster.info/intro.html) qui comprend (EDEN, www.edenresearch.info; EURISKED, www.eurisked.org; FIRE, www.rivm.nl/fire; et COMPRENDO, www.comprendo-project.org) ainsi que 8 projets associés dont BONETOX (www.imm.ki.se/bonetox) qui cible les problèmes osseux, et GENDISRUPT (www.cib.csic.es/gametogenesis/gendisrupt/frames.htm) qui cible le développement du testicule. Le programme EDEN est assez caractéristique des actions européennes : Il s'intéresse aux mécanismes moléculaires, à la nature des composés, aux effets-doses, aux effets « cocktail » et à la modélisation de ces phénomènes. En outre, le projet REACH (Registration, Evaluation and Authorization of Chemicals) se propose de répertorier et de constituer un rapport de sécurité sur 30 000 substances en 11 ans. Deux communications importantes de la Commission au conseil et au parlement Européen sur les PE (COM (2001) 262 et COM (1999) 706) décrivent la mise en place et les résultats d'une expertise portant sur 553 substances répertoriées sur la base de quatre critères : volume de production, persistance dans l'environnement, effets PE attestés par la communauté scientifique, considérations relatives à l'exposition). Parmi les 118 substances avérées ou suspectées comme perturbateurs, 109 étaient l'objet d'interdiction (PCB, pesticides) ou d'analyse plus poussée en 2001. La persistance de produits employés avant interdiction reste néanmoins un problème réel.

Plusieurs projets à l'échelle européenne comme COMPARE, www.compare-project.info/ ou FIRE ont été montés pour étudier spécifiquement la toxicité des nouveaux PHB ignifugeants en termes d'évaluation du risque. PHYTOS (www.phytos.org) s'intéresse aux phytoestrogènes. Le rejet de produits pharmaceutiques dans l'environnement fait l'objet de programmes spécifiques comme POSEIDON www.eu-poseidon.com; REMPHARMAWATER, cds.unina.it/%7Ermarotta), ou le projet LOES aux Pays-Bas qui portent sur l'élimination de composés pharmaceutiques et produits d'hygiène lors du traitement de l'eau.

Le 6^e PCRD prolonge ces actions (www.cordis.lu/food/home.html) en y adjoignant divers programmes de plus petite envergure de type STREP. Un réseau d'excellence (CASCADE, www.cascadenet.org) a été mis en place. Il compte 18 partenaires, 197 membres, et est financé par l'UE à hauteur de 14,4 Meuros pour 5 ans. Ce réseau pluridisciplinaire est chargé d'intégrer la mesure du risque à de multiples niveaux : réseau de surveillance, bases de données, organisation de

congrès, formation des chercheurs, bourses de thèse, diffusion de l'information. Un tiers du budget va à la recherche proprement dite. Ce réseau s'intéresse aux effets des xénobiotiques passant par les récepteurs nucléaires. Sa base théorique s'appuie sur le principe de précaution : la seule acceptation de l'absence totale d'effet perturbateur (NOE : no effect). Le premier exercice porte sur les dioxines, le bisphénol A, la génistéine et la vinclozoline.

Au niveau français, le Ministère de l'Ecologie et du développement durable dispose d'un certain nombre de conseils et comités nationaux, dont le Comité de la Prévention et de la Précaution (CPP) (http://www.ecologie.gouv.fr/rubrique.php3?id_rubrique=444) qui publie régulièrement des rapports sur les perturbateurs endocriniens, le dernier datant de mai 2004 (http://www.ecologie.gouv.fr/article.php3?id_article=1827). Le groupe ECRIN est une initiative intéressante qui relie l'industrie publique et privée, les acteurs de la recherche et les pouvoirs publics (www.ecrin.asso.fr). Au sein de cette association, des groupes ont pour fonction d'assurer une expertise collective permanente, de générer le transfert d'information, des propositions d'action et de valoriser la recherche.

Mode d'action des polluants chimiques non génotoxiques

Robert Barouki

Classification

On peut classer les polluants chimiques selon leur structure ou selon leur mode d'action probable. Les deux classifications présentent un intérêt

• **Classement par structure chimique**

- Hydrocarbures aromatiques polycycliques (Benzopyrène)
- Organochlorés et organobromés (pesticides, dioxine, PCB, polybromés)
- Amines aromatiques
- Organophosphorés (sarin, chlopyrifos)
- nitrosamines
- Fibres: amiante
- Métaux lourds
- Autres (Toxines comme l'aflatoxine)
- Mélanges: tabac, particules fines, goudrons

• **Classement par mode d'action principal**

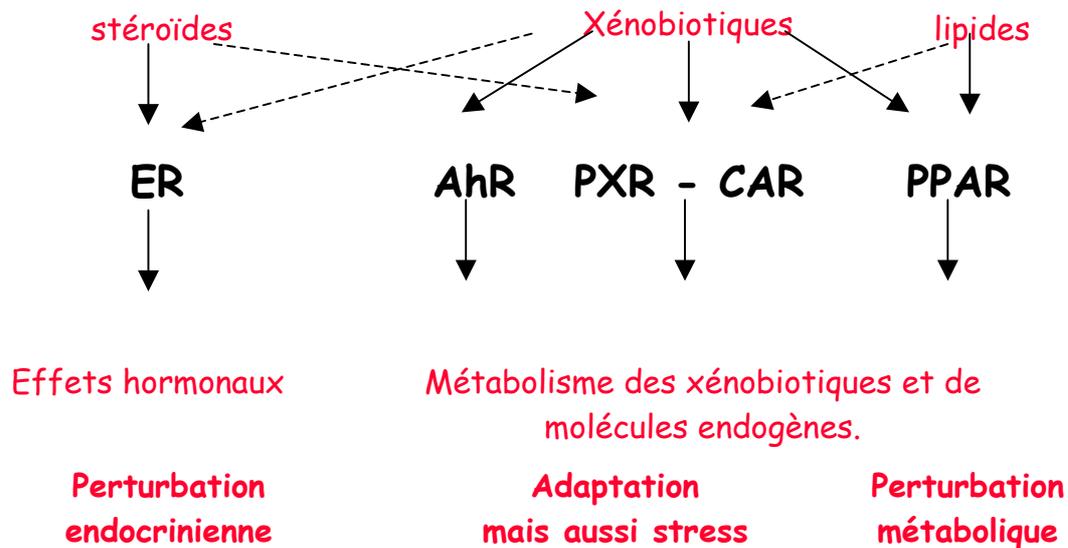
- Génotoxiques directs: agents physiques, Benzopyrène, aflatoxine
- Non génotoxiques:
 - signalisation cellulaire propre: dioxine (récepteur AhR)
pesticides (récepteur PXR)
 - perturbateurs endocriniens: activation ou inhibition de signalisation cellulaire: œstrogénomimétiques, pesticides organochlorés
 - perturbateurs enzymatiques: organophosphorés
 - stress cellulaires: stress oxydant(amiante, métaux, dioxine...) génotoxiques indirects
 - toxicité par dépôt: particules, amiante (inflammation)
 - toxicités multiples (mélanges ou pas)

Les deux classements ne sont bien entendu pas indépendants, mais il est clair que des composés de nature différente peuvent être génotoxiques (rayonnement et xénobiotiques par exemple) ; de même un type de composés donné (comme les pesticides organochlorés) peuvent avoir des mécanismes d'action différents.

Progrès récents dans l'étude du mode d'action de polluants chimique

Nous nous intéresserons principalement aux progrès dans le domaine des polluants non génotoxiques. Ces polluants activent différentes catégories de récepteurs que l'on peut classer en deux grands types : les récepteurs des xénobiotiques au sens strict (récepteur AhR de la dioxine et des hydrocarbures aromatiques polycycliques, récepteur PXR capable de lier des médicaments et des pesticides, le récepteur CAR dont le rôle concernat les polluants de l'environnement reste à établir) . Ces récepteurs ont pour fonction principale l'adaptation de l'organisme à l'afflux de xénobiotiques puisqu'ils sont responsables de l'induction des systèmes enzymatiques d'élimination des xénobiotiques (Dennison et Nagy, 2003 ; Hahn, 2002 ; Wilson et Kliever, 2002). Le deuxième ensemble de récepteurs pertinents en terme d'environnement regroupe des récepteurs de composés endogènes, comme les récepteurs hormonaux, qui sont néanmoins susceptibles d'être modulés par des polluants (par exemple pesticides organochlorés et récepteur de l'œstradiol). Il s'agit dans ce cas d'une « activation illégitime » de ces récepteurs conduisant à une perturbation endocrinienne ou métabolique (Naciff et Daston, 2004 ; Safe, 2004). Le schéma suivant illustre ce propos.

Récepteurs légitimes et illégitimes des xénobiotiques



Il est intéressant de noter que la toxicité provient à la fois de l'interaction d'un polluant avec son récepteur « légitime » (par exemple dioxine et récepteur AhR), que de l'interaction de ces polluants avec des récepteurs de composés endogènes. Notons aussi que cette classification des récepteurs est trop schématique dans la mesure où les récepteurs des xénobiotiques sont aussi capables de lier des composés endogènes (par exemple récepteur PXR et acides biliaires). Enfin, la notion d'affinité des récepteurs nucléaires est à prendre en compte : le récepteur de l'œstradiol a une affinité 1000x plus forte pour l'hormone naturelle que pour les pesticides organochlorés. En général, les xénobiotiques ont des affinités modérées pour leurs récepteurs (de l'ordre du μM), ce qui impose de vérifier la pertinence des observations obtenues ; seule la dioxine présente une forte affinité (nM) pour son récepteur, le AhR.

Les modèles d'étude de la toxicité des polluants sont nombreux ; Nous disposons de nombreux tests in vitro ou ex vivo et chez l'animal. Ces tests sont bien caractérisés pour les composés génotoxiques même si la valeur des tests est parfois controversée. Pour les composés non génotoxiques, l'étude de leurs mécanismes d'action est moins bien structurée et dépend des expertises de chaque laboratoire, de la disponibilité et la pertinence des modèles animaux et des modèles cellulaires. Il faut souligner que les mécanismes d'action des composés purement génotoxiques ou non génotoxiques sont distincts et il est hasardeux de transposer ce qui est connu pour une catégories à l'autre. Ceci est particulièrement important en ce qui concerne les modèles mathématiques de prédiction de toxicité à faible dose. Ces modèles sont souvent fondés sur la linéarité de la toxicité en fonction de la dose pour les composés génotoxiques, mais ceci est très discuté pour les autres composés.

Cependant, des travaux récents relativisent la séparation entre génotoxiques et non génotoxiques. De nombreux composés qui ne sont pas génotoxiques, provoquent un stress oxydant pouvant altérer l'ADN et provoquer par ce biais une génotoxicité (dioxine). D'autres composés exercent eux-mêmes une action non génotoxique, mais leurs métabolites sont capables de former des adduits à l'ADN (benzopyrène). Le protocole classique de cancérogenèse chimique chez le rongeur (initiateur vs promoteur) peut paraître schématique dans ces conditions. De plus l'étude des altérations géniques dans les tumeurs humaines montre une succession d'altération conduisant à l'apparition de cancers.

Références

- Willson TM, Kliewer SA. PXR, CAR and drug metabolism. *Nat Rev Drug Discov.* 2002 1:259-66
- Naciff JM, Daston GP. Toxicogenomic approach to endocrine disrupters: identification of a transcript profile characteristic of chemicals with estrogenic activity. *Toxicol Pathol.* 2004, 32:59-70
- Safe S. Endocrine disruptors and human health: is there a problem. *Toxicology.* 2004, 205:3-10
- Dennison MS and Nagy SR. Activation of the Aryl Hydrocarbon Receptor by structurally diverse exogenous and endogenous chemicals. *Annu Rev Pharmacol Toxicol.* 2003, 43 : 309-34
- Hahn ME. Aryl hydrocarbon Receptors : diversity and evolution. *Chemico-Biological Interactions.* 2002, 141 : 131-160

Aspects fondamentaux de la toxicologie

Jean-Jacques Leguay, toxicologie nucléaire,
directeur adjoint des sciences du vivant, CEA
Rémy Maximilien, adjoint du chef de département de radiobiologie,
chef de service de radiotoxicologie et cancérologie appliquée, CEA
Daniel Marzin, professeur de toxicologie, faculté de pharmacie, université de Lille 2,
chef du service de toxicologie à l'Institut Pasteur de Lille

Les perspectives scientifiques et les priorités envisageables

Quelles que soient les familles de substances chimiques (métaux et métalloïdes, pesticides, HAP, nanomatériaux etc...) ou de facteurs physiques (rayonnements...) entraînant des phénomènes de toxicité ou de dysfonctionnements cellulaires, avérés ou potentiels, les domaines de recherche qu'il faudrait privilégier devraient être focalisés sur l'étude des effets moléculaires et cellulaires sur quelques espèces modèles, représentatives du monde vivant. Alors pourrait être abordée l'étude des effets de l'exposition à de faibles doses chroniques de toxiques chimiques. Les formes de spéciation chimiques et physiques de ces toxiques (telles que celles des nanomatériaux) devront être étudiées. Enfin ces toxiques pouvant atteindre l'homme à travers les réseaux trophiques de la chaîne alimentaire, il demeure important d'en mesurer les effets à travers les différents niveaux d'exposition tels l'inhalation, et l'ingestion.

Prédire la toxicité chez l'être humain grâce à des organismes modèles : parmi les espèces biologiques à étudier, une place privilégiée devrait être dévolue aux espèces dont le génome a été séquencé et accessible, à l'étude génétique afin de bénéficier des avancées considérables des approches de la génomique (génomique fonctionnelle, transcriptomique, protéomique métabolomique), sinon les études resteront à un niveau superficiel de physiologie ou de biologie des années 80.

C'est uniquement par des approches de toxicologie moléculaire que pourront être abordées les études des effets de **faibles doses chroniques de toxiques** et les **études de toxicité faisant intervenir plusieurs facteurs**

Modéliser pour prévoir : une partie « modélisation », intégrant diverses échelles de complexité (cellules, organes, organismes, individu, population) pourrait être abordée afin de « prédire » ce qui peut se passer chez l'être humain.

Les domaines d'études suivant devraient être privilégiés (*quels que soit les toxiques connus, HAP, dioxines, phtalates, pesticides, métaux lourds, etc. les approches sont les mêmes.*)

Effets d'exposition chroniques à faibles doses au niveau moléculaire et cellulaire

- Mise au point de protocoles expérimentaux permettant de mettre en évidence des effets à faibles doses sur des fonctions cellulaires essentielles (régulation génétique positive ou négative de voies métaboliques), dans différentes cibles notamment les organes reproducteurs.
- Caractérisation moléculaire des effets positifs ou négatifs (voir, absence d'effets) des toxiques d'intérêt en fonction de leur dose (en insistant sur les faibles doses chroniques).
- Etudes des mécanismes cellulaires de toxicité et de détoxification.
- Etudes des mécanismes et des voies d'absorption cellulaires.
- Imagerie moléculaire non invasive pour visualiser au niveau cellulaire les effets des toxiques d'intérêt ainsi que leur répartition spatiale et temporelle.

Effets d'exposition chronique à faibles doses au niveau de l'organisme ou de l'individu

- Mise au point de protocoles expérimentaux permettant de mettre en évidence des effets au niveau de l'organisme vivant au cours de son cycle de vie.
- Mise au point de protocoles pour suivre les effets éventuellement transmissibles à la génération suivante.
- Etudes des mécanismes de transport entre cellules et organes.
- Etude de méthodes de décontamination (décontamination) ou de détoxification.
- Impact des toxiques sur les fonctions de reproduction.

- Impact sur l'immunité ou sur les fonctions endocrines.
- Rôle du polymorphisme génétique sur les effets toxiques.

Etudes des effets d'exposition à plusieurs types de polluants « à faible dose »

- Mise au point de protocoles expérimentaux robustes et reproductibles permettant d'expérimenter et de mettre en évidence des effets au niveau cellulaires et moléculaires, mais avec la complexité supplémentaire de l'interaction potentielle entre « polluants ». Ceci devrait conduire à la mise en évidence de bio-marqueurs précoces (notamment dans les fluides biologiques) caractérisant une contamination mono ou plurifactorielle.

Dosage et spéciation des « toxiques » : Caractérisation des formes chimiques

- Méthodes de dosages ultra sensibles pour détecter des ultra traces.
- Mises en évidence de la spéciation organique des différents toxiques à très faible dose.
- Recherches concernant les mécanismes de toxicité

Etudes de la toxicité éventuelle de nanomatériaux générés par l'industrie

- Mise au point de protocoles sur animaux modèles pour évaluer les effets cellulaires et moléculaires de nanomatériaux générés par l'industrie tels que les dérivés du carbone ou d'oxydes de métaux ou métalloïdes.

Aperçu de la dynamique scientifique à l'étranger

Une cinquantaine de revues scientifiques internationales à comités de lecture permettent la publication des résultats. Entre 30 et 40 sociétés savantes importantes existent et de grands programmes mobilisateurs ont été lancés à l'étranger, essentiellement aux USA.

En septembre 2000, le NTC (*National Center for Toxicogenomics*) a été créé pour coordonner les recherches nationales avec une forte implication de la FDA pour atteindre 5 objectifs :

- développer les applications biotechnologiques,
- comprendre les relations entre expositions environ et maladies humaines,
- identifier des bio marqueurs d'exposition et de maladies,
- utiliser la bioinformatique pour extraire du sens aux données produites,
- constituer une banque de données publique sur les effets biologiques de facteurs toxique.

D'autres institution privées ou publiques développent des approches de recherche « in silico » pour mieux comprendre les relations entre les sources de pollution les expositions à ces sources et les effets sur l'homme.

Le potentiel de recherche en France, les manques et les modalités d'intervention

Les spécialistes existent dans tous les domaines nécessaires ; ils sont dispersés dans divers Organismes de Recherche, mais il manque un grand programme correctement financé qui permette de les mobiliser sur quelques objectifs clairement identifiés.

L'urgence consiste probablement à développer une toxicologie moléculaire solide basée sur les techniques « omiques » et doublée d'une approche bioinformatique permettant de définir des marqueurs d'exposition à des polluants.

Les modes de mobilisation devront être souples et inclure selon la maturité des domaines, des réseaux de type GDR ou des appels à proposition sur des projets nécessairement transversaux à plusieurs Organismes de Recherche et trans-disciplinaires en incluant toutefois des aides financières conséquentes pour les plateformes (transcriptome, protéome, métabolome) et les outils de la bioinformatique.

Enfin, ce programme devrait être le début d'une prise de conscience pour que la toxicologie soit considérée comme une discipline prioritaire, ce qui devrait se traduire par la formations d'équipes plus nombreuses et spécialisées, hébergées dans les grands organismes de recherche. Ceci devrait aller

de paire avec un développement de la formation et d'un financement important sous forme de contrats pour des doctorants et des post doctorants.

Sciences Chimiques, Santé et Environnement

Marie-Claire Lasne, professeur, UMR 6507, université de Caen
directeur scientifique adjoint, département des sciences chimiques, CNRS
Marc Ledoux, directeur de recherche, laboratoire des matériaux,
surfaces, et procédés pour la catalyse, université Louis Pasteur Strasbourg 1
directeur scientifique du département sciences chimiques du CNRS

Le contexte

En 2050, la planète comportera quelques dizaines de milliards de personnes contre 6 milliards actuellement. Ceci soulève d'importants défis (nourriture, habillement ...) impliquant les Sciences Chimiques. En effet, les produits chimiques, depuis leur production, traitement, distribution, stockage, transport, utilisation jusqu'à la gestion de leurs déchets et leur élimination font partie de l'environnement humain. Par ses objectifs principaux - d'une part la synthèse de nouveaux outils moléculaires et matériaux et, d'autre part, la compréhension des mécanismes biologiques à l'échelle moléculaire - la chimie comporte d'importantes dimensions sociales, économiques, écologiques et culturelles. Présente à la vie quotidienne (cosmétique, alimentation, produits de la vie courante), aux développements économiques (agriculture, industrie), aux domaines de la santé (animale et végétale) les sciences chimiques contribuent à l'amélioration de la qualité de la vie. Toutefois elles se conjuguent avec l'utilisation de ressources onéreuses (pétrole), de molécules toxiques ou non sélectives de la fonction visée, et à l'exposition aux pollutions avec modifications ou dégradations de l'environnement. La maîtrise des problèmes chimiques est la clé d'un développement durable, harmonieux tant pour l'individu que pour la société et la nature, et créateur d'emplois.

Les principales questions scientifiques

Les sciences chimiques sont confrontées à plusieurs défis majeurs :

- le premier est « l'écoconception » c'est-à-dire l'accès, simple, efficace à de nouveaux objets (matériaux ou molécules) à propriétés spécifiques ciblées et bien définies, 100% sûrs pour l'environnement (objectif sociétal) ;
- la recherche de transformations respectueuses de l'environnement (objectif environnemental) par la « Chimie verte » qui consiste aussi bien en la dépollution à la source (le soufre dans les gas oil) ou à la sortie des réacteurs (traitement des effluents ou pots catalytiques) qu'en la découverte de procédés propres pour un développement durable (catalyse, réactions sans solvants, recyclage, hydrotraitements ...)
- l'utilisation de ressources renouvelables (management des ressources rares ; objectif économique) ;
- la détection de traces et la spéciation analyse en particulier pour la sécurité alimentaire et l'agriculture propre ;
- une meilleure compréhension des interactions des molécules ou matériaux avec leur environnement (objectif culturel) et des mécanismes de physicochimie fondamentale qui sont à la base du transfert de la chimie des polluants dans l'environnement (atmosphère, sols, sédiments, organismes vivants) ;
- le contrôle des déchets et leurs rejets (économie d'atomes, dépollution)
- et en collaboration avec les spécialistes (CEA, Sciences pour l'Ingénieur, Industriels), le traitement des déchets nucléaires, le recyclage des matériaux métalliques ou des polymères,
- l'économie et le stockage de l'énergie.

Un aperçu de la dynamique scientifique à l'étranger (revues, associations scientifiques, grands programmes nationaux ou internationaux..)

Revues

Depuis plusieurs années des revues destinées aux publications de Chimie dans le domaine de l'environnement ont été créées. Ainsi

- la Royal Chemical Society publie la revue « Green Chemistry » et « Issues in Environmental Science and Technology ».

Can green chemistry promote sustainable agriculture? Hjeresen DL, Gonzales R.
Environ Sci Technol. 2002, 36(5):102A-107A.

- l'American Chemical Society consacre une revue sur la recherche en toxicologie « Chemical Research in Toxicology »

Exemples de formations dans le domaine de la "chimie verte"

- *Education and International Green Chemistry Programs*
Dennis L. Hjeresen (Director, ACS Green Chemistry Institute, USA)
- *Teaching Green Chemistry Across the Spectrum*
Janet L. Scott and Antonio F. Patti (Centre for Green Chemistry, Monash University, Melbourne, Australia)
- *Green Chemistry Education in Italy and Europe*
Pietro Tundo (Department of Environmental Sciences, Ca' Foscari University - Venice, Italy)
- *Development of an Undergraduate Course in Green Chemistry*
Greg T Klease and John Rideout (Central Queensland University, Rockhampton, Australia)
- *Use of SATL Techniques as a Method of Creating Green Chemistry Laboratory*
A. F. M. Fahmy¹, M. S. A. Hamza¹, H. A. A. Medien¹, W.G. Hanna¹ and J. J. Lagowski² (1 Ain Shams University, Cairo, Egypt; 2 The University of Texas at Austin, USA)

Ouvrages

Plusieurs ouvrages ont été publiés. On peut citer par exemple:

- *Chemical Concepts in Pollutant Behavior, Environmental Progress, Wiley*
- *Chemistry, Health and Environment, Olov Sterner, 1999.* Cet ouvrage, écrit du point de vue du chimiste, traite des relations entre les structures des produits chimiques et la toxicité, leur influence sur l'homme et les écosystèmes. En connaissant mieux les relations entre les structures des composés organiques et leurs propriétés et leurs effets sur la santé et l'environnement, il est possible de prévoir les dangers chimiques.

Institut

Green Chemistry Institute, American Chemical Society, Washington, DC, USA. d_hjeresen@acs.org

Programmes nationaux liés aux industries chimiques

Les programmes nationaux concernant la Santé, la Sécurité et l'Environnement des pays suivants, peuvent être trouvés sur un site web.

Austria,	Germany	The Netherlands	Sweden
Czech Republic, Belgium Denmark	Greece Hungary Ireland	Norway Poland Portugal	Switzerland Turkey United Kindgom
Finland	Israel	Slovak Republic	
France UIC – Union des Industries Chimiques (www.uic.fr)	Italy, FEDERCHIMICA Federazione Nazionale dell'Industria Chimica. www.federchimica.it	Spain	

Le potentiel de recherche en France et les manques (disciplines, laboratoires, organismes concernés...)

Le département des Sciences Chimiques du CNRS comporte, dans ses laboratoires (Unités propres ou Unités mixtes de recherche) 1850 chercheurs et 2796 enseignants chercheurs. On peut estimer 50 % le nombre de ceux-ci travaillant avec un objectif directement lié à l'environnement ou à la santé. Les laboratoires concernés par ces thématiques relèvent tous d'une des 6 sections du département des Sciences Chimiques du CNRS

Section 11 Systèmes supra et macromoléculaires : propriétés, fonctions, ingénierie. Cette section comporte, en particulier des enseignants chercheurs en polymères recyclables, l'allègement des structures et travaillent avec les motoristes et les industries automobiles.

Section 12 Architectures moléculaires: synthèses, mécanismes et propriétés. L'un des objectifs de cette section est le développement, pour la synthèse de molécules organiques (médicaments, matériaux moléculaires), de méthodologies de recherche (chimie verte, économie d'atomes, dépollution via des substances organiques, catalyse, nouveaux milieux).

Section 13 Physicochimie : molécules, milieux Une partie des chercheurs et enseignants chercheurs de cette section se consacrent à la chimie analytique appliquée à l'environnement. Une autre partie travaille en chimie nucléaire, la moitié d'entre eux se consacrant à l'aval du cycle nucléaire

Section 14 Chimie de coordination, interfaces et procédés. Cette section est celle de la catalyse hétérogène et la moitié des chercheurs ont une activité la dépollution catalytique et les procédés propres.

Section 15 Chimie des matériaux, nanomatériaux et procédés. Une partie importante des chercheurs de cette section travaille dans le domaine de l'électrochimie, du stockage électrochimique, et des procédés propres.

Section 16 Chimie du vivant et pour le vivant : conception et propriétés de molécules d'intérêt biologique. Cette section est directement concernée par la Santé puisqu'elle vise la synthèse de nouveaux médicaments, celle de biomatériaux et étudie la vectorisation de principes actifs. Cette section est également concernée par la biodiversité (produits naturels pour développer de nouveaux « leads »).

Au sein de cette dernière section a été créée une Unité de prévention du risque chimique. Les principales missions de cette unité sont : l'information, l'expertise et la formation. l'accent est mis notamment sur les effets des produits sur la santé, la sécurité et l'environnement.

Les activités de l'unité répondent aussi bien aux besoins des organismes publics et des industriels qu'à ceux du grand public. Dans le cadre de la GDENV, elle développe un site Internet pour présenter aux utilisateurs de produits chimiques les apports mais aussi les contraintes du futur règlement européen REACH.

Quelques manques

Parmi les thématiques peu développées ou diluées dans les laboratoires nationaux, on peut noter :

- les bioconversions,
- la toxicologie des composés, leur métabolisation, les méthodes utilisées pour le screening des molécules à visée thérapeutique pouvant être utilisées pour évaluer les aspects toxicologiques

Les perspectives scientifiques et les priorités envisageables

Les perspectives du département Sciences Chimiques du CNRS sur les sujets liés à la santé et l'environnement, ou la santé et le travail se repèrent aisément dans les grands objectifs que s'est fixé

le département en particulier, dans l'axe prioritaire transversal du CNRS :environnement et développement durable.

Trois objectifs sont directement liés à ce sujet :

- Développement de nouvelles méthodes analytiques,
- Développement de nouvelles synthèses éco-compatibles,
- Développement de nouvelles techniques chimiques antipollution, préventives ou curatives, et en premier lieu la catalyse.

Enfin, le CNRS vient de mettre en place, (printemps 2005), sous la responsabilité du département des sciences chimiques, mais avec les départements de physique, des sciences pour l'information, des sciences humaines et sociales et des sciences de la vie, une nouvelle commission interdisciplinaire intitulée : « Impacts socio-économiques de l'introduction des nanomatériaux et des nanotechnologies ». Cette commission est chargée de recruter un certain nombre de chercheurs prêts à s'investir dans ce champ pluridisciplinaire pour créer une communauté de scientifiques appartenant à l'origine à chacune de ces disciplines, prêts à répondre au questionnement de l'environnement et de la santé lié à cette nouvelle dimension nano.

Les trois objectifs précédents contribuent de manière directe au même questionnement Environnement-Santé.

- Il est urgent et difficile de mettre au point de nouvelles méthodes d'analyse (extraction, détection, spéciation) pour mesurer la présence d'éléments ou de molécules à l'état d'ultra-traces, les quantifier et suivre leur déplacement et leur évolution dans les cellules vivantes, les systèmes cellulaires vivants, les sols minéraux et organiques, l'atmosphère, etc ...

La France est bien placée dans ce domaine avec des laboratoires de classe internationale au CNRS et au CEA et avec des industriels de l'équipement analytique très performants (Bruker Biospin à 60 % du marché mondial de la RMN).

- Tous les chimistes de synthèse du monde travaillent à l'amélioration du rendement des réactions : moins d'étapes, moins d'énergie consommée, moins de sous-produits liés à une amélioration de la sélectivité. Pour une fois, économie et protection de l'environnement marchent dans le même sens. C'est la dimension préventive du rôle de la chimie dans la protection de l'environnement. De plus, des synthèses sélectives conduisent à des produits moins chers car plus faciles à purifier, et donc des produits plus faciles à tracer et à étudier dans leurs relations avec la santé humaine ou avec l'écosystème. Combien de produits inoffensifs ont été accusés à tort d'avoir des effets indésirables ou dangereux, alors que c'était des traces d'impuretés qui étaient responsables de ces dommages !

- La catalyse, une technique chimique permettant d'améliorer et d'optimiser les vitesses de réactions, contribue dans presque tous les cas à l'augmentation de l'efficacité et de la sélectivité des procédés. La catalyse intervient en amont à titre préventif, mais elle intervient aussi en aval pour dépolluer. La plupart des procédés de dépollution « intelligents », met en œuvre des procédés catalytiques ou des procédés de séparation. L'épuration des gaz d'échappement ou des flux de sortie d'usine met en jeu des catalyseurs transformant les produits polluants en produits inoffensifs ou des filtres à haute performance auto-régénérants. Récemment de nouveaux systèmes catalytiques ont été mis au point pour brûler instantanément les particules émises par les moteurs Diesel, ou des nanomatériaux sophistiqués ont été inventés pour purifier l'eau ou d'autres liquides sans opération physique ou chimique, par absorption sélective. De même des procédés de photocatalyse vont permettre de lutter efficacement contre la pollution microbienne ou virale.

La chimie et son industrie, souvent source de pollution avec leurs impacts sur la santé et l'écosystème, sont devenues la première discipline ou le premier secteur responsable de la dépollution, mais aussi de la compréhension des phénomènes liés à la pollution à l'échelle atomique ou moléculaire.

La département des Sciences Chimiques du CNRS se veut être le fer de lance de cette nouvelle chimie et entend prendre toutes ses responsabilités dans l'étude et la mise en œuvre des procédures REACH que les autorités européennes veulent mettre en place.

Les perspectives de collaboration entre disciplines, voir les programmes de recherche envisageables, les modalités d'intervention adaptées (appels à propositions, réseau d'équipes, équipement, concertation pour le montage de projets interdisciplinaires, réflexion méthodologiques.).

Les thématiques citées ci-dessus pourraient faire l'objet de programmes de recherche au niveau national. Un appel à proposition, pour la création d'un réseau d'équipes, aurait pour mérite :

- d'identifier, au niveau national et européen, les laboratoires ou équipes travaillant dans le domaine choisi ;
- de préciser des objectifs communs en liaisons avec les partenaires concernés (Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la recherche, de l'Environnement, de la Santé, différents départements du CNRS, INSERM, INRA, CEA..)
- de donner les moyens nécessaires à la réalisation de projets ciblés communs entre plusieurs équipes. L'attribution d'allocations de recherche sur une thématique donnée du « réseau » devrait permettre le développement de projets de grande envergure.