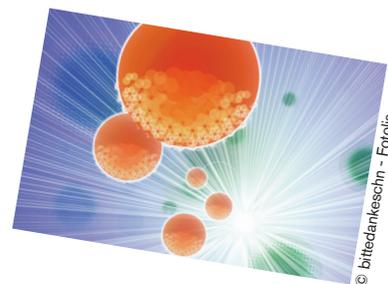


DOSSIER

LES NANOMATÉRIAUX À L'INSERM

POUR UNE DÉMARCHE D'ÉVALUATION ET DE PRÉVENTION



Développés en recherche médicale à des fins diagnostiques et thérapeutiques, l'utilisation des nanomatériaux en médecine est bien documentée. Cependant, leur manipulation à grande échelle dans les laboratoires est suspectée de provoquer des effets néfastes sur la santé. C'est pourquoi le bureau de coordination de la prévention des risques de l'Inserm élabore une démarche d'évaluation et de prévention du risque lié aux nanomatériaux.

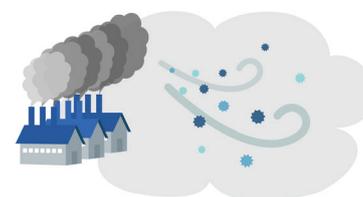
Que sont les nanomatériaux ?

Selon la définition officielle de la Commission européenne, il s'agit : « d'un matériau soit naturel, soit formé accidentellement, soit manufacturé et constitué de particules libres ou sous forme d'agrégat ou d'agglomérat, dont au moins 50 % des particules présentent une ou plusieurs dimensions externes se situant entre 1 nm et 100 nm. »

En réalité, des particules de taille supérieure peuvent également être considérées comme étant de dimensions nanométriques. Le Code de l'environnement parle aussi de « substances à l'état nanoparticulaire ». L'unité de référence

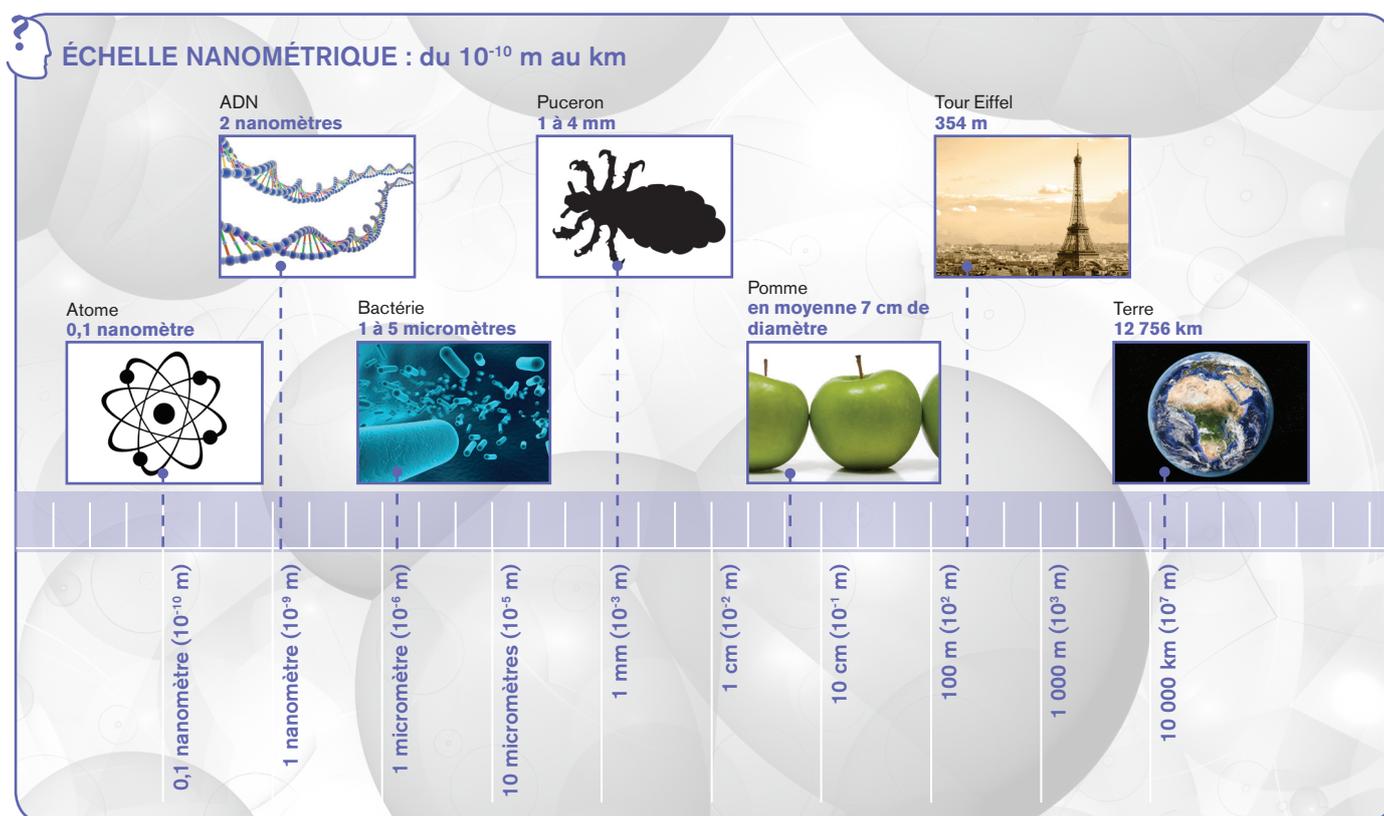
est donc le nanomètre (nm) soit 10^{-9} mètres (cf. schéma ci-dessous).

Dans la catégorie des nanoparticules, certaines sont naturelles (volcaniques), d'autres issues de l'activité humaine (émissions de moteurs) et d'autres encore sont manufacturées. Ces dernières, ainsi que toutes les autres catégories de nanomatériaux, trouvent des applications dans de nombreux secteurs d'activités tels l'automobile, l'électronique, la construction, l'agroalimentaire, la cosmétique et, ce qui nous intéresse particulièrement, la médecine et la santé.



Particules issues de l'activité humaine.

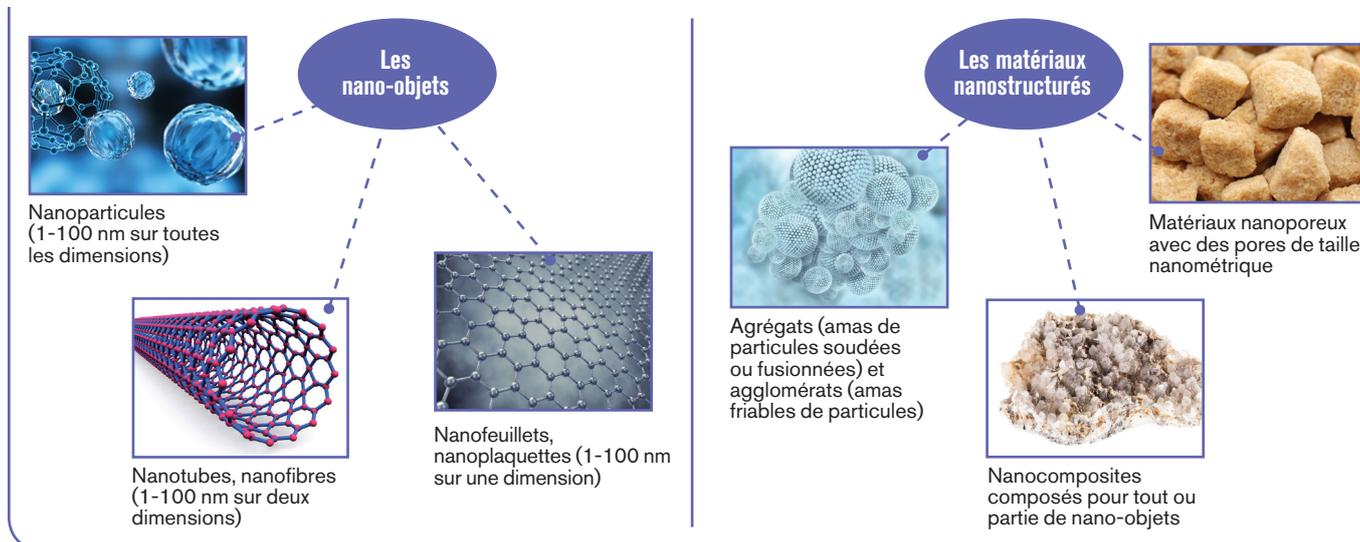
© Fotolia - honoka



© Fotolia : Arcady - Benjaminet - martantfoto - netzfrisch.de - Michael Filippo - Serge Ramelli - timothyh



LES DIFFÉRENTES CATÉGORIES DE NANOMATÉRIAUX



© Fotolia : psdesign1 - Tyler Boyes - nobeastsofierce - fotolaxrender - Darro Lo Presti - Stepan Popov

Quelles applications en recherche biomédicale ?

Les applications potentielles des nanomatériaux dans le domaine biomédical commencent à se développer : 44 médicaments, 9 dispositifs médicaux et 5 produits de diagnostic sont déjà sur le marché en France. Certains sont utilisés pour le traitement du cancer du sein, d'autres pour les troubles de l'attention et l'hyperactivité ou comme produit de diagnostic pour l'imagerie du tube digestif, ou encore en pansement cicatrisant et antiseptique. Beaucoup d'autres sont en essai pré-clinique ou clinique pour deux groupes d'applications :

- **Diagnostiques** : en imagerie, la fluorescence à l'échelle nanométrique (fluorophores, quantum dots) permet d'envisager le ciblage et la détection précise d'organes ou de cellules spécifiques, comme des cellules cancéreuses.
- **Thérapeutiques** : les nanovecteurs (liposomes, dendrimères) permettent d'améliorer le ciblage des médicaments vers les tissus malades, tout en réduisant les effets indésirables et les dégâts sur les tissus sains. Les applications les plus courantes se retrouvent en cancérologie. Il devient ainsi possible de cibler les cellules cancéreuses sans inonder tout l'organisme de chimiothérapies difficilement tolérables. D'autres applications concernent la médecine cardiovasculaire, particulièrement le traitement de l'athérombose. Dans tous les cas, pour atteindre

leur but, les nanomatériaux sont constitués, enrobés ou greffés de biomolécules que reconnaissent les cellules cibles.

Enfin, des nanomatériaux peuvent entrer dans la composition de biomatériaux utilisés en odontologie, en ingénierie ostéo-articulaire, et plus généralement en médecine régénérative.

Certains répondent aux deux groupes et se sont ainsi vus attribuer le néologisme de « théranostiques ».

Pour en savoir plus, consulter le magazine Science & Santé n° 7 sur le site www.inserm.fr, rubrique Le magazine de l'Inserm.

Quels effets toxiques ?

La toxicité des nanomatériaux est encore mal connue. Il semble cependant admis qu'elle soit plutôt supérieure à celle du produit « parent » de même composition chimique à l'échelle macroscopique. Ceci est dû à la taille des particules qui facilite leur pénétration par toutes les voies d'exposition : inhalation, ingestion ou contact cutané.

Les études de toxicité jusque-là réalisées ont montré des réactions d'inflammation, de stress oxydatif et même de génotoxicité (altération non transmissible du génome qui se traduit par un dysfonctionnement cellulaire pouvant conduire à un cancer).

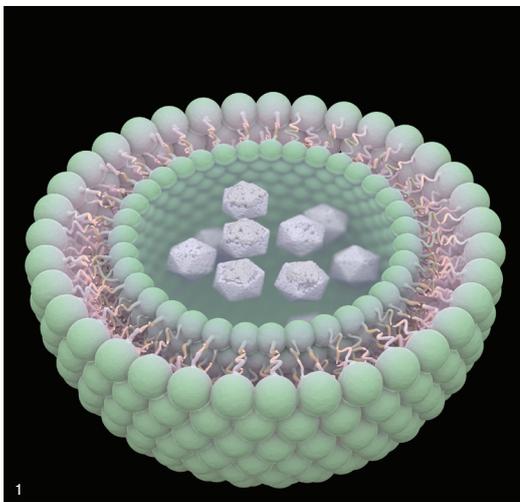
Après inhalation et dépôt dans les alvéoles pulmonaires, une translocation vers d'autres organes a été observée. Le passage à travers les barrières placentaire et hémato-encéphalique

reste controversé, mais la taille des nanoparticules rend très probable cette possibilité. Cette toxicité peut dépendre de nombreux paramètres : composition chimique, taille, forme physique (moins toxique en suspension qu'en poudre car moins susceptible de pénétrer dans l'organisme), état particulaire ou agrégé/aggloméré. Des nanoparticules peuvent s'agglomérer ou s'agréger, perdant ainsi de leur toxicité. Inversement, un agglomérat peut se diviser en particules libres et ainsi risquer de devenir plus toxique. Chaque nanomatériau est donc un cas particulier.

Quelle démarche d'évaluation et de prévention ?

Connaissant les risques potentiels des nanomatériaux, le bureau de coordination de la prévention des risques s'est engagé à élaborer une démarche d'évaluation de ce risque particulier menant à des mesures de prévention à la manipulation de ces produits.

Jusqu'à maintenant, il n'existe pas de consensus concernant les préconisations particulières aux nanomatériaux. Ces derniers sont composés de produits chimiques. Ainsi, les principes de prévention devant être appliqués relèvent du risque chimique. Par principe de précaution, la toxicité des nanomatériaux étant mal connue mais pouvant être importante, les mêmes règles de prévention que pour les produits cancérogènes, mutagènes et toxiques pour la reproduction (CMR) sont pour le moment préconisées à l'Inserm.



1/ © CNRS Photothèque - François Caillaud
2/ © Fotolia - dmeinkau

1/ Le liposome est une vésicule biodégradable constituée d'une double couche de phospholipides et d'un compartiment aqueux. Il est utilisé comme vecteur de médicament dont le principe actif y est encapsulé. Un liposome est environ 70 fois plus petit qu'un globule rouge.
2/ Les quantum dots sont des nanocristaux semi-conducteurs émettant une lumière fluorescente dont la couleur dépend de la taille. Déjà utilisés comme marqueurs fluorescents en microscopie, ils pourraient révolutionner les techniques d'imagerie médicale pour le repérage de cellules cancéreuses par exemple.



QUELS NANOMATÉRIAUX TROUVE-T-ON À L'INSERM ?

Pour connaître plus précisément le paysage des nanomatériaux produits ou manipulés à l'Inserm, le bureau de coordination de la prévention des risques a réalisé un recensement des unités utilisant cette technologie. Objectif principal : la prévention. Mais aussi, répondre à l'obligation de déclarer les nanomatériaux fabriqués, utilisés ou mis sur le marché par toute entreprise, y compris les organismes de recherche publics. Cette déclaration, à la demande du ministère de l'Écologie, du Développement durable et de l'Énergie, doit être renouvelée tous les ans.

L'enquête a été réalisée grâce au relais des conseillers de prévention qui ont interrogé les assistants de prévention de chaque laboratoire de leur délégation régionale. La plupart des unités sollicitées ont répondu à l'enquête (88 %). Parmi celles-ci, 22 % ont déclaré concevoir, fabriquer ou utiliser des nanomatériaux. Certaines unités étudient la toxicité des nanoparticules, et particulièrement celle de la pollution atmosphérique, sur le système respiratoire et le système cardiovasculaire. Beaucoup utilisent des réactifs contenant des éléments de dimensions nanométriques pour la transfection (transfert de gènes d'une cellule à une autre) ou le tri cellulaire. Mais la plupart des unités concernées s'intéressent aux propriétés potentielles des nanomatériaux pour leurs applications « théranostiques ». Parmi elles, certaines fabriquent de grandes quantités de novecteurs de différentes compositions.

Par ailleurs, plusieurs publications scientifiques décrivent des méthodes d'évaluation, toutes basées sur la détermination d'un niveau de risque et proposent des préconisations adaptées à la gravité du risque ainsi défini. Ainsi, de même que pour leur toxicité potentielle, la prévention vis-à-vis des nanomatériaux doit être réfléchiée en fonction des situations.

Cependant, certaines méthodes sont plus adaptées à des applications industrielles qu'à la manipulation dans les laboratoires de recherche. Parmi les méthodes les plus pertinentes, celle de Groso *et al.* semble répondre le mieux aux besoins des structures de l'Inserm concernées. Récemment, cette méthode a été mise à l'essai dans les unités 1045, 1066 et 1148, choisies pour leur production ou utilisation importantes de nanomatériaux, après avoir identifié

les étapes expérimentales où le risque nano était présent. L'évaluation du risque repose sur un arbre de décision à plusieurs critères (forme d'émission des particules, état physique, quantités manipulées) dont l'interaction permet l'identification d'un parmi trois niveaux de danger. Les préconisations qui en découlent sont déclinées en préconisations techniques, organisationnelles et humaines. Une fois la méthode testée, un rapport a été publié et distribué à chaque directeur d'unité en avril 2015. Il en ressort que cette méthode est tout à fait adaptée aux activités de recherche des laboratoires de l'Inserm. Elle est facile à utiliser par les chercheurs et les assistants de prévention.

Le but est maintenant de généraliser la démarche dans toutes les unités concernées, par le relais des conseillers de prévention et avec

l'aide des assistants de prévention, sans perdre de vue que les mesures seront prises selon les conditions expérimentales, comme tout ce qui concerne les nanomatériaux. Certaines expérimentations plus complexes nécessiteront de s'entourer d'un groupe d'experts constitué de chercheurs de l'Institut. ●

Martine Orosco-Pecoraro et Jacques Simons



EN SAVOIR PLUS SUR LA MÉTHODE DE GROSO ET AL.

Consulter l'article *Management of nanomaterials safety in research environment, Particle and Fibre Toxicology, 2010, 7 : 40*, via le lien suivant : <http://www.biomedcentral.com/content/pdf/1743-8977-7-40.pdf>

RETOUR D'EXPÉRIENCE

Comment faire progresser la prévention ?

LA MANIPULATION DE NANOPARTICULES ATMOSPHÉRIQUES OU MANUFACTURÉES REQUIERT-ELLE DES PRÉCAUTIONS PARTICULIÈRES ?

La méthode de Grosso *et al.* a été testée dans l'unité 1045, à Bordeaux. Ce laboratoire s'intéresse à la réactivité bronchique et vasculaire pulmonaire et les chercheurs y mènent, notamment, des recherches sur l'évaluation des effets des particules de la pollution atmosphérique ou de nanoparticules manufacturées sur la fonction vasculaire pulmonaire.

1 De quoi s'agit-il ?

→ **Particules de la pollution atmosphérique**
Certaines sont prélevées dans différents sites urbains et ruraux pour en étudier les effets sur les cellules vasculaires. Ces particules reflètent une pollution environnementale saisonnière locale ou de fond, mais leur composition n'est pas parfaitement connue et doit être déterminée. D'autres particules, obtenues auprès du *National Institute of Standards and Technology* (États-Unis) ont l'avantage d'avoir été en partie caractérisées. Ces études permettent de corréliser leurs effets biologiques avec leur nature physico-chimique.

→ **Nanoparticules manufacturées utilisées dans l'industrie**
Il s'agit de nanoparticules de carbone, d'oxyde de silicium et d'oxyde de titane marquées ou non par des fluorochromes que l'on peut suivre par imagerie pour en étudier les effets.

2 Quels sont les dangers ?

L'exposition aux particules peut être associée au développement, mais surtout à l'exacerbation de symptômes de maladies respiratoires et cardio-pulmonaires préexistantes, tel que l'hypertension artérielle pulmonaire.

Dans ce laboratoire, les chercheurs manipulent notamment des nanomatériaux sous forme de poudre, ce qui accroît les risques. Ils risquent d'être particulièrement exposés :

- lors de la récupération des particules de pollution atmosphérique à partir des filtres ;
- lors de la pesée des nanoparticules manufacturées ;
- lors du traitement des cultures cellulaires.

3 Comment les éviter ?

Leurs expérimentations relèvent également du risque biologique (cellules de patients). Les chercheurs doivent donc prendre des mesures particulières pour assurer la protection vis-à-vis des deux risques.

→ **Organisation du laboratoire**

- Pièce dédiée et séparée du reste des activités du laboratoire pour le prélèvement, la pesée des poudres et la mise en suspension des particules.
- Laboratoire L2 et matériel (incubateur, PSM) dédiés pour l'ajout des particules en suspension aux cultures cellulaires.

→ **Organisation du travail**

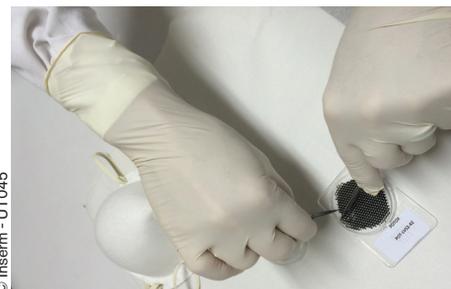
- Utilisation de la technique de double pesée, préconisée pour toute pesée de produits dangereux.

→ **Port des équipements de sécurité**

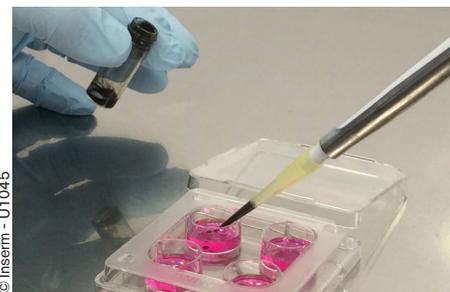
- blouse dédiée à l'activité, de préférence en tissu non-tissé.
- gants, double paire si nécessaire.
- masque anti-poussière de classe 2.
- lunettes à protections latérales.

Attention : toute démarche de prévention des risques liés aux particules doit être envisagée au cas par cas. ●

Isabelle Baudrimont, Jennifer Cattiaux, Arnaud Courtois, Roger Marthan, Inserm U1045



Récupération des particules de la pollution atmosphérique à partir de filtres.



© Inserm - U1045

Mise en contact de cellules vasculaires pulmonaires avec des particules de la pollution atmosphérique.

À NOTER

Les particules de la pollution atmosphérique sont des particules que l'on retrouve dans l'environnement et qui se présentent sous des formes variées, de taille allant de plusieurs micromètres pour les plus grosses à quelques nanomètres pour les plus fines. Il s'agit de polluants primaires (particules émises par des phénomènes naturels ou des activités anthropiques) et secondaires (particules formées à partir de précurseurs déjà existants dans l'air). Les nanoparticules manufacturées étudiées et utilisées dans l'industrie servent, entre autres, comme facteurs de charge à la fabrication des pneumatiques (noir de carbone), pigment et autonettoyant dans les matériaux de construction/bâtiment (oxyde de titane). Les applications d'oxyde de silicium, ou silice, sont multiples : les pneumatiques, le dentifrice, l'alimentation, les produits pharmaceutiques, le papier, la peinture...