

# Microplastiques et nanomatériaux

*Comprendre où en est la recherche*

Mai 2021



**anses**



## Editorial

**I**nvisibles à l'œil nu, les nanomatériaux ouvrent de vastes perspectives dans le domaine de la recherche, notamment médicale. Ils sont aussi de plus en plus présents dans les produits alimentaires et cosmétiques, où l'emploi de substances à l'état nanoparticulaire permet d'améliorer leur efficacité, absorption ou biodisponibilité. Toutefois, leur utilisation soulève des interrogations quant aux incidences possibles sur la sécurité sanitaire et environnementale.

En franchissant la frontière du nanomètre (un milliardième de mètre), les matériaux acquièrent des comportements qui diffèrent des lois de la physique « classique ». Ces propriétés sont d'autant plus surprenantes qu'elles peuvent varier selon la taille, la structure et la forme (ex. fibres, sphères, tubes). Tout se passe comme si nous descendions en terre quasi inconnue. Dans l'industrie manufacturière (automobile, chimie, électronique, emballage alimentaire, caoutchouc et plastique...), nombre de travailleurs<sup>1</sup> fabriquent des produits incorporant des nanomatériaux, parfois même sans le savoir. Dès lors, comment faire pour que les dangers et les risques soient pleinement identifiés sur le lieu du travail ?

Depuis 2013, la France a mis en place un système de déclaration obligatoire des substances à l'état nanoparticulaire qui prévoit que les fabricants, importateurs et distributeurs de plus de cent grammes par an de substances à l'état nanoparticulaire fassent état de l'identité des substances, des quantités manipulées ainsi que des usages prévus. Même si les 52.000 déclarations enregistrées entre 2013 et 2017 *via* le registre R-Nano<sup>2</sup> ont contribué à nourrir les travaux d'expertise scientifique, les derniers rapports<sup>3</sup> de l'Anses soulignent la difficulté à appréhender les diverses situations d'exposition pour l'Homme et l'environnement, ainsi que les limites des méthodologies existantes en matière d'évaluation des risques.

Pour prendre la mesure des difficultés rencontrées, commençons par rappeler qu'il n'existe pas de définition consensuelle (ou harmonisée) du terme « nanomatériau ». Au niveau européen, la définition recommandée par la Commission européenne<sup>4</sup> en 2011 a servi de référence à plusieurs reprises dans les différents textes législatifs mais, après plusieurs phases de discussions, elle doit être révisée et débattue. En l'absence de consensus, les définitions proposées comportent des différences et des niveaux de précision variables, d'une famille de produits à l'autre (ex. additifs alimentaires, biocides, cosmétiques) – ce qui permet à certains industriels de sortir du champ d'application des réglementations spécifiques. Dès l'ouverture de la consultation publique, l'Anses apportera sa contribution au regard des aspects sanitaires.

Sans attendre, l'Agence a réalisé une revue des méthodes analytiques disponibles pour la caractérisation des nanomatériaux. Complément indispensable des travaux d'expertise, sept des projets de recherche financés par le PNR EST, mis en avant dans ce nouveau numéro des *Cahiers de la Recherche* illustrent la dynamique initiée par la loi « Grenelle II »<sup>5</sup> vers une meilleure connaissance

---

<sup>1</sup> On ne connaît pas leur nombre exact.

<sup>2</sup> Registre géré par l'Anses : <https://www.r-nano.fr/>

<sup>3</sup> Anses, *Évaluation des risques liés aux nanomatériaux* (avril 2014) – *Nanomatériaux dans les produits destinés à l'alimentation* (mai 2020) – *Registre R-Nano* (nov. 2020)

<sup>4</sup> Recommandation de la Commission du 18 oct. 2011 relative à la définition des nanomatériaux (2011/696/UE) : <https://eur-lex.europa.eu/LexUriServ/LexUriServ.do?uri=OJ:L:2011:275:0038:0040:FR:PDF>

<sup>5</sup> Loi No 2010-788 du 12 juillet 2010 portant engagement national pour l'environnement.

des voies d'exposition humaine, du cycle de vie des nanomatériaux dans l'organisme, et la recherche de solutions innovantes dans tous les domaines - y compris les moins attendus comme l'efficacité de la filtration des eaux usées, par exemple.

Autre motif de préoccupation sanitaire et sociétale : la contamination des milieux aquatiques par les micro- et nano-plastiques dont l'évidence s'accroît continuellement, qu'ils résultent de la fragmentation de déchets de plastiques ou de la fabrication intentionnelle de microbilles de plastiques comme celles utilisées par exemple dans les cosmétiques. Ces particules, qui ont la capacité d'adsorber, de concentrer et de transporter un grand nombre de contaminants chimiques et biologiques, peuvent s'intégrer dans le vivant dès les premiers maillons de la chaîne trophique, en particulier aquatique ou marine. Pour cette raison, elles peuvent représenter un danger émergent pour le consommateur. L'Anses mène donc des travaux afin d'évaluer la quantité et les caractéristiques des particules plastiques dans certains aliments, ainsi que le niveau d'exposition et le risque pour la santé humaine. L'Anses s'intéresse aussi aux méthodes d'analyse et d'échantillonnage pour convenir, avec des scientifiques d'autres pays, de protocoles communs et rassembler la communauté francophone qui travaille sur le devenir des plastiques en milieu aquatique. Cinq des projets présentés ici se sont saisis de cette question pour soutenir les efforts entrepris et améliorer l'identification, la caractérisation ou la traçabilité des particules grâce à des technologies innovantes comme la spectrométrie Raman et la microscopie électronique. Financés par le PNR EST, ils favorisent l'émergence de nouveaux résultats de recherche et le développement d'approches transdisciplinaires.

## Roger GENET

Directeur général, Anses

Cahiers de la Recherche NANOMATÉRIAUX & MICROPLASTIQUES		# 17
12	34	1,72
Projets valorisés	Équipes de recherche impliquées	Millions d'euros alloués

## Sommaire

Editorial.....	1
<b>Les nanomatériaux .....</b>	<b>5</b>
Nanoparticules métalliques et perturbateurs endocriniens.....	11
Les effets des co-expositions du BaP avec des nanoparticules.....	13
Les effets des nanoparticules de silice amorphe sur le système immunitaire.....	16
L'exposition cutanée aux nanoparticules métalliques .....	19
L'effet d'une contamination de cellules avec des nanoparticules.....	21
Comment éliminer les micropolluants dans l'eau ? .....	23
Le cycle de vie de nanoparticules chez l'humain .....	26
<b>Les microplastiques .....</b>	<b>30</b>
Les microplastiques et leur couronne de protéines (corona) .....	33
Micro- et nanoplastiques dans les eaux continentales.....	36
Le transfert des micro- et nanoplastiques dans les chaînes alimentaires .....	39
Les microplastiques et le risque lié à la consommation de moules contaminées .....	41
Effets potentiels de micro- et nanoplastiques sur des cellules humaines .....	43
Abréviations et acronymes utilisés .....	45
Table des illustrations .....	46
Archives ouvertes.....	48

### **Avertissement à l'attention des lecteurs**

Les présentations des projets de recherche reflètent les points de vue des équipes scientifiques partenaires et n'engagent ni les Ministères de tutelles ou l'Anses et les partenaires associés. Pour toute question, les contacts sont indiqués en tête de chaque article.

Tableau 1 : Domaines d'applications par type de nanomatériaux (Source : Anses, Évaluation des risques liés aux nanomatériaux, Édition scientifique, avril 2014)

Nanomatériaux	Domaines d'application	Exemples de produits finis
<b>Nano-oxydes</b>	Matériaux composites structuraux – Composants anti-UV – Polissage mécano-chimique des substrats dans la microélectronique – Applications photocatalytiques, BTP	Additifs alimentaires, peintures, cosmétiques, encres, pneumatiques
<b>Matériaux nanométralliques</b>	Secteurs antimicrobiens et/ou de la catalyse – Couches conductrices des écrans, les capteurs ou encore les matériaux énergétiques	Pansements, films alimentaires, revêtements (réfrigérateur), plans de travail, vitres ou murs autonettoyant, vêtements, matériaux en contact de denrées alimentaires, emballages alimentaires ingérables
<b>Noirs de carbone</b>	Transports, BTP, imprimerie	Pneumatiques, encres, peintures
<b>Matériaux nanoporeux</b>	Aérogels pour isolation thermique dans les domaines de l'électronique, de l'optique et de la catalyse – Domaine bio-médical pour des applications de type vectorisation ou encore implants	Membranes de filtration de l'eau, peintures, colles, fertilisants
<b>Nanotubes de carbone</b>	Nanocomposites conducteurs électriques – Matériaux structuraux – nanoélectronique, biomédical	Raquette de tennis, écran souple, pare-chocs, phares, batteries, pneumatiques
<b>Nanomatériaux massifs</b>	Transports, BTP, équipements sportifs	Revêtements durs – Composants structuraux pour l'industrie aéronautique, l'automobile, les conduites pour les industries pétrolières et gazières, le domaine sportif ou encore le secteur anticorrosion
<b>Dendrimères</b>	Domaine médical – Domaine cosmétique	administration de médicaments, détection rapide
<b>Quantum dots</b>	Applications optoélectroniques (écrans)	Cellules photovoltaïques, encres et peintures pour applications de type marquage anti-contrefaçon
<b>Fullerènes</b>	Secteurs du sport (nanocomposites) et des cosmétiques	Mascaras, crèmes de beauté, balles de golf
<b>Nanofils</b>	Électronique, opto-électronique, photovoltaïque	Applications dans les couches conductrices des écrans ou encore les cellules solaires ainsi que les dispositifs électroniques

## Les nanomatériaux

*Depuis la fin des années 1990, les développements technologiques permettent de produire des nanomatériaux en laboratoire et dans l'industrie.*

Ces matériaux de très petite taille sont dix mille fois plus petits qu'un cheveu humain. Elaborés pour leurs propriétés particulières, ils entrent désormais dans la composition de nombreux produits de la vie courante. Ils peuvent, par exemple, être ajoutés dans l'alimentation comme additif alimentaire pour améliorer l'aspect d'un produit, son appétence<sup>6</sup> ou l'assimilation de certains nutriments en favorisant leur absorption par l'organisme. Ils peuvent également être utilisés dans le domaine médical pour améliorer l'efficacité de certains médicaments ou traitements thérapeutiques<sup>7</sup>.

### Les nanomatériaux : quelle définition ?

Il n'existe pas une, mais plusieurs définitions du terme « nanomatériau » établies par divers organismes et instances internationales (ex. ISO, OCDE). Au niveau européen, la définition recommandée en 2011 par la Commission européenne<sup>8</sup> sert de référence dans différents textes réglementaires et législatifs même si elle est toujours débattue<sup>9</sup> : reprise en grande partie dans le Décret n° 2012-232 relatif à la déclaration annuelle des substances à l'état nanoparticulaire produites, distribuées ou importées en France<sup>10</sup>.

***Une substance à l'état nanoparticulaire*** est définie comme « une substance<sup>11</sup> fabriquée intentionnellement à l'échelle nanométrique, contenant des particules, non liées ou sous forme d'agrégat ou sous forme d'agglomérat, dont une proportion minimale<sup>12</sup> des particules, dans la distribution des tailles en nombre, présente une ou plusieurs dimensions externes se situant entre 1 nm et 100 nm. »

Cette taille nanométrique confère aux substances des propriétés physico-chimiques particulières, qui n'existent pas à une échelle plus grande. Ces propriétés spécifiques (ex. taille, forme, caractère soluble) amènent à se poser des questions quant à leur comportement et leur interaction avec le vivant et notamment leurs effets sur la santé (ex. capacité à franchir les barrières physiologiques) et sur l'environnement (ex. persistance dans l'environnement).

<sup>6</sup> Modifier la couleur, la structure, la texture...

<sup>7</sup> Cf. Tableau sur les domaines d'applications par type de nanomatériaux, pp. 4

<sup>8</sup> Recommandation 2011/696/UE : « On entend par nanomatériau, un matériau naturel, formé accidentellement ou manufacturé contenant des particules libres, sous forme d'agrégat ou sous forme d'agglomérat, dont au moins 50% des particules, dans la répartition numérique par taille, présentent une ou plusieurs dimensions externes se situant entre 1 nm et 100 nm. »

<sup>9</sup> Après plusieurs phases de discussion engagées dès 2012, la Commission européenne a envisagé une mise en consultation publique d'une définition révisée pour une durée de 14 semaines. Jusqu'à présent, elle n'a toujours pas formulé de proposition pour remplacer sa recommandation de 2011 pour la caractérisation des nanomatériaux – ce qui « permet à certains acteurs de se positionner en retrait par rapport à différentes obligations réglementaires ».

<sup>10</sup> Décret n° 2012-232 du 17 fév. 2012 relatif à la déclaration annuelle des substances à l'état nanoparticulaire pris en application de l'article L. 523-4 du Code de l'environnement.

<sup>11</sup> Telle que définie à l'article 3 du règlement CE N° 1907/2006.

<sup>12</sup> Cette proportion a été fixée à 50% de la distribution des tailles en nombre (Arrêté du 6 août 2012).

## La production de nanomatériaux

Au niveau mondial, le nombre de produits de consommation contenant des nanomatériaux ne cesse de croître. L'ancien inventaire<sup>13</sup> du Woodrow Wilson Center et de VirginiaTech avait identifié en 2014 plus de 1 800 produits contenant des nanomatériaux sur le marché mondial (contre 54 en 2005 et 1 012 en 2010), témoignant d'une très grande diversification des applications industrielles<sup>14</sup>.

Parmi les nanoparticules les plus produites en masse, on retrouve celles de dioxyde de silice ( $\text{SiO}_2$ ) et de dioxyde de titane ( $\text{TiO}_2$ ), suivies par celles d'oxyde de zinc ( $\text{ZnO}$ ), des nanocomposites, etc.

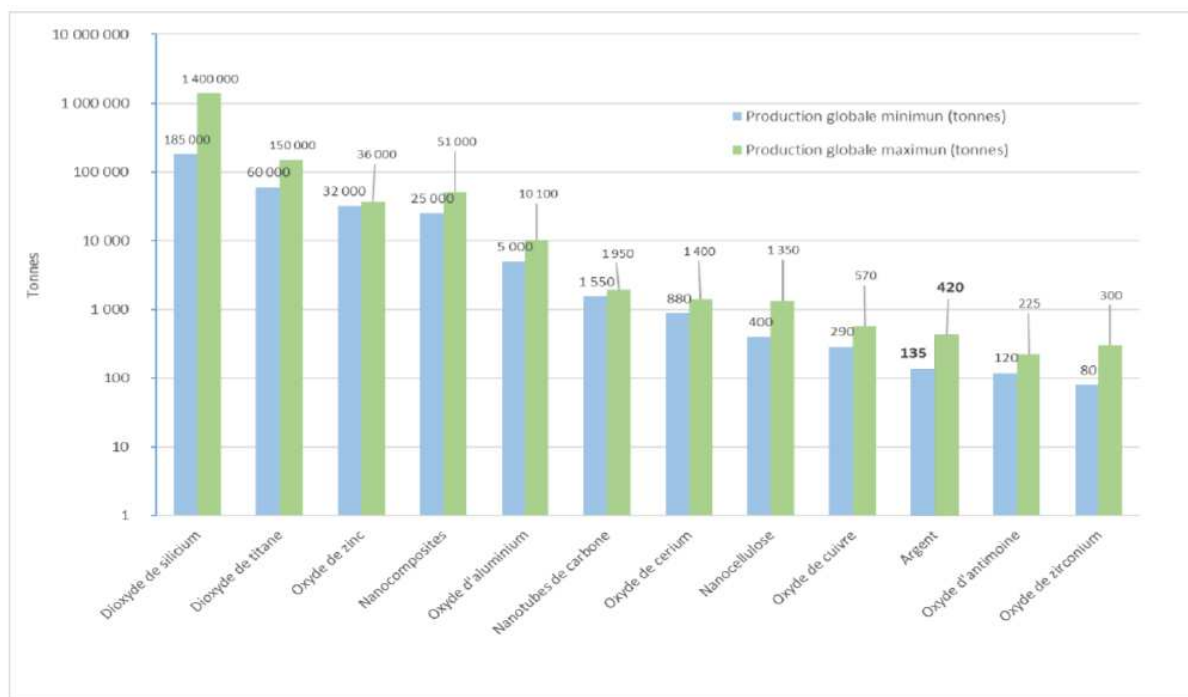


Illustration 1 : Production mondiale de nanomatériaux (2014)

En France, 400.000 tonnes environ de substances à l'état nanoparticulaire sont produites et importées chaque année<sup>15</sup> - les nanoparticules de dioxyde de silice ( $\text{SiO}_2$ ) et le dioxyde de titane ( $\text{TiO}_2$ ) figurant aussi parmi les plus produites et importées en France<sup>16</sup>. Leur présence soulève de nombreuses questions sur les risques qu'elles peuvent représenter, aussi bien pour la santé humaine que pour l'environnement.

Selon Aurélien Deniaud, « deux types de nanoparticules métalliques sont décrits dans la littérature : les nanoparticules persistantes comme celles de dioxyde de titane (...) et les nanoparticules labiles comme celles d'argent ». Des études récentes suggèrent notamment qu'elles pourraient perturber le

<sup>13</sup> Dernière actualisation : octobre 2013 - *Project on Emerging Nanotechnologies* (PEN) : <http://nanotechproject.tech/cpi/>

<sup>14</sup> Marina E. Vance et al. *Nanotechnology in the real world: Redeveloping the nanomaterial consumer products inventory* - <https://doi.org/10.3762/bjnano.6.181>

<sup>15</sup> Registre R-nano, *Évaluation des potentialités d'exploitation et de partage des données déclarées, Avis et rapport d'expertise collective*, Anses, Édition scientifique, novembre 2020.

<sup>16</sup> Selon les données issues des déclarations de substances à l'état nanoparticulaire (rapport d'étude R-nano, 2019).



système endocrinien. Grâce au développement des techniques d'imagerie, comme la microscopie de fluorescence de rayons X (XRF), il propose d'investiguer leurs effets dans les cas de co-exposition<sup>17</sup>.

**Les expositions de la population**

- *Les co-expositions*

Plus de la moitié de la population mondiale vit actuellement dans des zones urbaines et industrielles. Parmi les polluants cancérogènes avérés<sup>18</sup>, présents dans l'air, figurent de nombreux hydrocarbures aromatiques polycycliques (HAP) qui proviennent principalement des gaz d'échappement des véhicules, de la fumée du tabac... Ainsi, Xavier Coumoul s'interroge sur la toxicité du benzo(a)pyrène (BaP) en mélange avec d'autres polluants émis de manière concomitante. En effet, certaines données montrent que « *les nanoparticules auraient la capacité d'agir comme de véritables chevaux de Troie* » favorisant l'entrée de molécules toxiques dans les cellules<sup>19</sup>. Or, les conséquences en termes de risques sanitaires de cette propriété n'ont pas encore été étudiées<sup>20</sup>.



Illustration 2 : Cheval de Troie (Auteur : Nathalie Riaux)

De même, la diversité des usages fait que la silice amorphe nanoparticulaire va se rencontrer dans des environnements chimiques variés et souvent complexes (élastomères et plastiques). Les effets dits « cocktail » sont donc particulièrement importants à étudier dans ce cas, « *d'autant plus que la silice est un excellent adsorbant de substances hydrophiles* », à même de jouer elle aussi, selon Thierry Rabilloud, le rôle de « cheval de Troie »<sup>21</sup>.

<sup>17</sup> Aurélien Deniaud, *Nanoparticules métalliques et perturbateurs endocriniens*, pp. 11-13.

<sup>18</sup> Groupe 1 du CIRC.

<sup>19</sup> Capacité d'adsorber des molécules en formant une couronne (corona) autour.

<sup>20</sup> Xavier Coumoul, *Les effets des co-expositions du BaP avec des nanoparticules*, pp. 13-16.

<sup>21</sup> Thierry Rabilloud, *Les effets des nanoparticules de silice amorphe sur le système immunitaire*, pp. 16-19.

- ***L'exposition professionnelle***

Dans ce contexte, le nombre de travailleurs potentiellement exposés aux nanoparticules ne cesse d'augmenter. Selon la Commission européenne, plus de 300 000 personnes seraient particulièrement concernées en Europe, dont 12 000 en France : plus de 5 000 salariés dans l'industrie et 7 000 chercheurs dans les laboratoires<sup>22</sup>. En fait, il s'agit là de projections faites en 2013. Aujourd'hui, il reste encore difficile d'obtenir des chiffres précis, faute d'informations communiquées par les industriels.

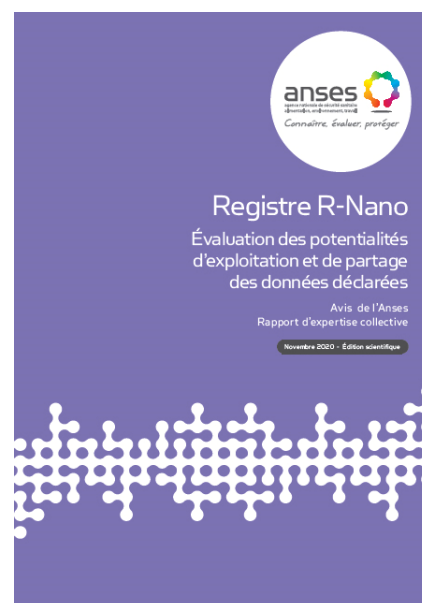
Comme le souligne Céline Bouvier-Capely, « la connaissance précise des effets sur la santé d'une exposition professionnelle aux nanoparticules n'est pas encore maîtrisée ». À propos des nanoparticules métalliques (ex. nanoparticules d'argent), elle s'inquiète notamment d'une exposition non-intentionnelle par voie cutanée qui pourrait résulter de l'absence de port d'équipement de protection cutanée, voire d'un équipement non adapté<sup>23</sup>.

Pour mieux connaître les nanomatériaux effectivement produits, importés et distribués en France, il est apparu nécessaire d'améliorer la connaissance du marché, aussi bien en termes de substances commercialisées en France, qu'en termes d'usages, de filières d'utilisations concernées, de quantités, etc. Suite à la loi Grenelle II du 12 juillet 2010, la France a décidé d'instaurer une déclaration obligatoire annuelle des substances à l'état nanoparticulaire, qu'elles soient utilisées telles quelles, en mélanges ou dans certains matériaux : dispositif entrée en vigueur le 1<sup>er</sup> janvier 2013<sup>24</sup>.

### **Le dispositif de déclaration via le registre R-nano**

Après huit années d'existence, la France (pionnière dans la mise en place de ce système de déclaration) dispose désormais d'un état des connaissances des nanomatériaux produits, importés et distribués sur son territoire. Chaque année, plus de 400.000 tonnes sont ainsi produites et importées en France par de nombreuses entreprises (ex. bâtiment, automobile, emballage, agro-alimentaire, produits cosmétiques et de santé) et organismes de recherche. Toutefois, malgré les apports de ce dispositif de déclaration<sup>25</sup>, les informations déclarées, encore parcellaires, nuisent toujours à la traçabilité des nanomatériaux : 90 % des données déclarées concernant la caractérisation des nanomatériaux (ex. taille, surface spécifique, charge de surface) ne sont pas exploitables et seules 10 % des déclarations contiennent des usages correctement décrits. Ce qui limite grandement la possibilité de mener des études, notamment en matière d'évaluation des risques sanitaires.

Ainsi, dans son avis du 24 novembre 2020, l'Anses formulait plusieurs pistes d'amélioration pour fiabiliser les données et optimiser l'efficacité de ce dispositif. Incitant vivement à rendre la déclaration plus exigeante en matière d'informations à compléter, et à mettre un terme aux dérogations accordées, elle recommandait également un réexamen des textes réglementaires, notamment afin de revoir à la baisse le seuil à partir duquel les nanomatériaux doivent faire l'objet d'une déclaration et de



<sup>22</sup> INRS, *Les nanomatériaux, bilan et perspectives en santé et sécurité au travail*, M. Reynier, Hygiène et sécurité du travail, 232, sept. 2013.

<sup>23</sup> Céline Bouvier-Capely, *L'exposition cutanée aux nanoparticules métalliques*, pp. 19-21.

<sup>24</sup> Articles L.523-1 à L. 523-5 du Code de l'environnement (loi Grenelle II du 12 juillet 2010).

<sup>25</sup> 52.000 déclarations enregistrées entre 2013 et 2017.

fournir des informations complémentaires quant au nombre, par exemple, de travailleurs potentiellement exposés.

### Des défis en matière d'évaluation

Une des difficultés rencontrées pour évaluer les risques liés aux nanomatériaux est la question des limites de validité des méthodes développées pour les substances chimiques « classiques », c'est-à-dire des substances à l'état moléculaire.

- *Un exemple : le dioxyde de titane (TiO<sub>2</sub>)*

Sous le même nom chimique d'une substance (ex. dioxyde de titane ou TiO<sub>2</sub>), il peut exister des formes nanométriques différentes (ex. cristalline, fibreuse, pigmentaire, allongée) : donc, des toxicités différentes – ce qui fait que l'évaluation d'un type donné de nanomatériau peut ne pas être extrapolable à un autre, fait pourtant de la même substance.

De plus, contrairement à une molécule d'une substance chimique « classique », les paramètres physico-chimiques d'un nanomatériau et sa toxicité éventuelle sont susceptibles d'évoluer entre sa fabrication et son devenir, après mise en décharge et recyclage. Il est donc difficile de caractériser un nanomatériau à chaque étape de son cycle de vie et de réaliser des scénarii d'exposition pertinents et complets.



Illustration 3 : Nanomatériaux dans les produits destinés à l'alimentation (2020)



Illustration 4 : Valeurs toxicologiques de référence, le dioxyde de titane sous forme nanoparticulaire (2019)

Non seulement, les connaissances scientifiques sur les substances « classiques » ne sont pas nécessairement transposables aux nanomatériaux manufacturés, mais il n'existe pas encore de protocoles standardisés pour les tests de toxicologie et d'écotoxicologie. Même si les travaux progressent en ce sens, les méthodes et les tests existants doivent, pour la plupart, être adaptés afin de prendre en compte les spécificités des substances (ou formes) nanoparticulaires.

Ainsi, pour déterminer les effets génotoxiques des nanoparticules d'argent, Jean-Luc Ravanat propose de développer une nouvelle méthodologie basée sur la chromatographie liquide couplée à la spectrométrie de masse en mode tandem (HPLC-MS/MS) : une approche analytique (preuve de concept) qui permettrait à la fois de doser la concentration de nucléotides dans les cellules et de

déterminer l'effet d'une contamination de cellules avec des nanoparticules d'argent<sup>26</sup>. Des techniques et instruments de mesure doivent donc être développés et/ou normalisés, également pour mesurer l'exposition.

### **Le devenir des nanomatériaux dans l'environnement**

Les nanomatériaux et les micropolluants entraînent des risques pour l'être humain et l'environnement, car ils ne sont pas complètement biodégradables.

En 2015, explique Florence Gazeau, « *des chercheurs de l'Université de Paris Saclay ont trouvé des nanotubes de carbone (CNT) dans les poumons d'enfants asthmatiques vivant en région parisienne : plus précisément dans les cellules des voies respiratoires* ». Composés d'un ou de plusieurs feuillets de graphène, ces nanotubes focalisent l'attention des chercheurs car ils pourraient agir comme des fibres d'amiante. Ils font l'objet de nombreuses interrogations : que deviennent-ils une fois qu'ils sont dans l'organisme humain ? Comment se dégradent-ils ? C'est pourquoi Florence Gazeau s'intéresse à leur cycle de vie en milieu biologique, plus particulièrement chez l'humain<sup>27</sup>

Lorsque les nanomatériaux sont rejetés en permanence dans les effluents d'eaux usées, ils ne peuvent pas être complètement éliminés avec les méthodes traditionnelles de traitements des eaux ; ils se « bio-accumulent » et peuvent même ainsi former de nouveaux mélanges dans l'eau. Les effets exacts de ces contaminants ne sont pas encore complètement connus. Pour répondre aux inquiétudes des autorités de santé de l'Union européenne<sup>28</sup>, Philippe Barthélémy et les chercheurs du consortium NanoDeco proposent des solutions innovantes pour la décontamination des eaux usées et de développer de nouveaux bio-indicateurs<sup>29</sup>.

---

<sup>26</sup> Jean-Luc Ravanat, *L'effet d'une contamination de cellules avec des nanoparticules*, pp. 21-23.

<sup>27</sup> Florence Gazeau, *Le cycle de vie des nanotubes de carbone chez l'humain*, pp. 23-25.

<sup>28</sup> Normes environnementales définies par l'UE à compter de sept. 2015 (Directive 2000/60/EC).

<sup>29</sup> Philippe Barthélémy, *Comment éliminer les micropolluants dans l'eau ?* pp. 25-29.

## Nanoparticules métalliques et perturbateurs endocriniens

Impact sur les fonctions endocrines de nanoparticules métalliques seules et en mélange avec des composés organiques perturbateurs endocriniens pour l'analyse de l'effet cocktail

**Aurélien DENIAUD**, Laboratoire de Chimie et Biologie des Métaux, UMR UGA/CEA/CNRS 5249, Grenoble

Équipe partenaire : **David Du Pasquier**, Laboratoire Watchfrog, Evry

Étude de faisabilité (depuis le 13 nov. 2019) –  
Financement : 49.820 € – Contact :  
[aurelien.deniaud@cea.fr](mailto:aurelien.deniaud@cea.fr)

**Mots-clés** : exposition multiple, nanoparticule, argent, dioxyde de titane, polluant organique persistant, perturbateur endocrinien, composé organique, mélange, toxicité, écotoxicité, foie, cellule, hépatocyte, système endocrine

Comme les perturbateurs endocriniens, les nanoparticules suscitent d'importantes préoccupations sociétales, car on les retrouve de plus en plus dans les produits de consommation courante (ex. aliments, emballages, crèmes solaires, textiles) en raison de leurs propriétés physico-chimiques inédites. Cette utilisation généralisée soulève aussi des inquiétudes auprès de la communauté scientifique, notamment celles des risques potentiels pour l'environnement et la santé.

Aujourd'hui, le défi des toxicologues est de modéliser l'exposome<sup>30</sup> afin d'étudier au mieux ses conséquences sur la santé.

### Les nanoparticules métalliques

Deux types de nanoparticules (NP) métalliques sont décrits dans la littérature :

1. Les NP persistantes, comme celles de dioxyde de titane<sup>31</sup> (TiO<sub>2</sub>) qui peuvent

<sup>30</sup> La totalité des expositions à des facteurs environnementaux que subit un être humain tout au long de sa vie.

s'accumuler dans certains organes humains et provoquer des inflammations, voire des maladies chroniques.

2. Les NP labiles, comme celles d'argent<sup>32</sup> (Ag) qui subissent des processus variables (non contrôlés) de transformation et de libération des produits. En raison de leur réactivité, elles sont disséminées dans l'environnement sous différentes formes et leurs effets potentiels à des conditions réelles d'exposition restent méconnus, notamment sur la santé humaine.

Quoi qu'il en soit, ces deux types de NP sont toxiques pour les mammifères. Les différentes formes d'argent<sup>33</sup> et de dioxyde de titane peuvent franchir les barrières biologiques et s'accumuler principalement dans le foie. Ainsi, nous avons déjà démontré qu'à la suite d'une endocytose<sup>34</sup>, les NP d'argent libèrent des ions Ag(I) biodisponibles et toxiques qui se répartissent dans l'ensemble des hépatocytes<sup>35</sup> tandis que des mécanismes similaires ont été observés dans d'autres types de cellules.

### La perturbation endocrinienne

D'autres études suggèrent que les NP pourraient perturber la fonction endocrine ; cela pourrait provenir notamment du relargage d'ions métalliques ou d'un effet cargo des NPs qui pourraient favoriser l'entrée de certains perturbateurs endocriniens dans les cellules. Le développement des techniques d'imagerie, comme la microscopie de fluorescence de rayons X (XRF), nous a permis de visualiser

<sup>31</sup> Les nanoparticules de TiO<sub>2</sub> sont utilisées dans les crèmes solaires, les peintures ou comme additifs alimentaires (plus de 50.000 tonnes produites par an dans le monde).

<sup>32</sup> Les nanoparticules d'Ag sont très prisées pour leurs propriétés biocides (bactéricides et virucides) : utilisées dans les dispositifs médicaux et les produits de consommation (ex. emballages alimentaires, textiles).

<sup>33</sup> Capacité à libérer des ions Ag(I).

<sup>34</sup> Mécanisme de transport des molécules vers l'intérieur des cellules.

<sup>35</sup> Cellules hépatiques.

les NP d'argent et leurs dérivés à une échelle subcellulaire<sup>36</sup>. Nous avons alors constaté que :

- Les ions Ag(I) possèdent aussi une grande affinité pour les molécules thiolées<sup>37</sup>, présentes dans les résidus cystéines<sup>38</sup> des peptides et des protéines, souvent impliquées dans la chélation de métaux lourds physiologiques (cuivre, zinc) ou de métaux toxiques (ex. cadmium, argent) ;
- Les ions Ag(I) se retrouvent dans tous les compartiments cellulaires, y compris les noyaux où ils s'accumulent et perturbent l'activité de deux récepteurs nucléaires : FXR et LXR. Or, ces facteurs de transcription sont aussi connus pour être affectés par des polluants organiques perturbateurs endocriniens.

Dans les cas de co-exposition, la majorité des études récentes suggère que les NP peuvent transporter les perturbateurs endocriniens dans l'organisme et potentialiser leurs effets... ou parfois les inhiber. Par conséquent, des études complémentaires sont nécessaires pour approfondir ces interactions. Elles le sont d'autant plus que les NP peuvent revêtir différentes formes, susceptibles d'influencer leur biodisponibilité<sup>39</sup>.

### Le projet de recherche : NanOCO

Notre projet NanOCO étudie l'effet des NP métalliques seules ou en mélange avec des perturbateurs endocriniens sur la fonction endocrine. Il se focalisera sur deux types de nanoparticules : labiles (Ag) et persistants (TiO<sub>2</sub>).

<sup>36</sup> Par marquage des différentes organelles (élément différencié de la cellule vivante, ex. mitochondrie, appareil de Golgi, lysosome).

<sup>37</sup> Molécules contenant des thiols (composé organosoufré).

<sup>38</sup> Acide aminé.

<sup>39</sup> Proportion d'une substance qui atteint la circulation sanguine : doit être prise en considération lors du calcul des doses.

### Méthodologie

Notre projet comporte différentes étapes :

- Caractérisation *in vitro* de la dispersion des deux types de NP seuls ou en mélange avec des perturbateurs endocriniens (PE) dans différents milieux biologiques.
- Impact des nanoparticules Ag et TiO<sub>2</sub> seuls ou en mélange avec des PE sur la thyroïde, les fonctions des oestrogènes et des androgènes sur des larves de Médaka (poissons de rizières d'Asie) et d'amphibiens (Xénope).
- Mise en place de tests basés sur des gènes rapporteurs pour visualiser les effets des NP et/ou PE sur des lignées cellulaires d'hépatocytes.
- Évaluation sur le modèle hépatocyte des effets des NP et/ou PE sur différentes voies endocrines.

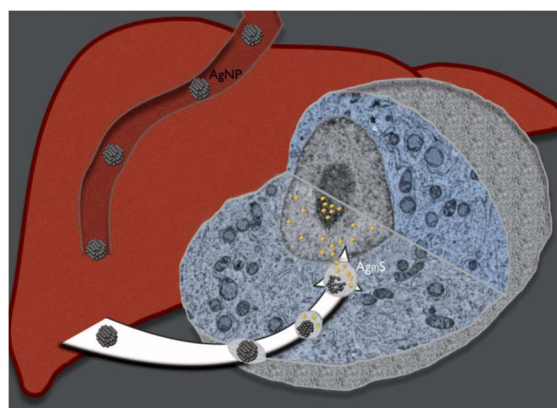


Illustration 5 : L'accumulation des nanoparticules d'argent dans le foie et leur transformation dans les hépatocytes conduisant à la libération d'ions Ag(I) qui interfèrent avec des fonctions endocrines à l'intérieur du noyau

### Résultats préliminaires

L'utilisation de modèles standardisés pour l'étude de PE chez le Médaka et le Xénope a permis d'obtenir des résultats préliminaires intéressants d'autant plus que les effets sont différents pour les différentes voies testées. D'un côté, que ce soit pour les nanoparticules d'argent ou de titane, l'activation de la voie androgène est potentialisée probablement en favorisant l'entrée de molécules activatrices.

D'un autre côté, les expériences sur la voie oestrogénique montrent que seules les nanoparticules d'argent ont une action synergique avec un inhibiteur de cette voie. Cet effet est donc spécifique de ces nanoparticules. Il pourrait être dû à une action directe des ions Ag(I) sur cette voie comme nous l'avons observé précédemment sur LXR et FXR dans les hépatocytes<sup>40</sup>. Ces résultats préliminaires mettent en évidence l'intérêt de cette étude de faisabilité mais nécessiteront bien évidemment des études complémentaires approfondies.

## Les effets des co-expositions du BaP avec des nanoparticules

Effets du B(a)P seul ou en co-exposition avec des nanoparticules et implication du récepteur Ah (ou AhR) dans l'intégrité et la fonction de deux barrières physiologiques : broncho-pulmonaire et placentaire

**Xavier COUMOUL**, Université de Paris, Inserm UMR-S 1124, Paris

Équipes partenaires : **Sophie Gil et Ioana Ferecatu**, Université de Paris, Faculté de Pharmacie de Paris, UMR-S 1139, Paris - **Sonja Boland**, Université de Paris, CNRS UMR 8251, Paris

Projet de recherche (de 2015 à 2019) –  
Financement : 197.960 € – Contact :  
[xavier.coumoul@parisdescartes.fr](mailto:xavier.coumoul@parisdescartes.fr)

**Mots-clés** : benzo[a]pyrène, nanoparticule, dioxyde de cérium, pollution atmosphérique, exposition multiple, polluant organique persistant, hydrocarbures aromatiques polycycliques, métabolite, inhalation, appareil respiratoire, barrière, épithélium, placenta, métabolisme, risque sanitaire, cytotoxicité, récepteur, ligand, facteur de transcription, perturbateur endocrinien

Le benzo(a)pyrène (BaP) est formé par la combustion incomplète de composés organiques ; c'est un hydrocarbure aromatique polycyclique (HAP) qui peut se retrouver notamment, avec d'autres HAPs, dans la fumée de cigarette, dans les gaz et particules d'échappements automobiles, les feux de bois et dans l'alimentation (ex. barbecue, procédés de fumage). Reconnu comme un agent cancérigène, mutagène et reprotoxique (CMR) de classe 1, il est classé par l'Observatoire de la Qualité de l'Air Intérieur (OQAI) parmi les quinze polluants « hautement prioritaires »<sup>41</sup> dont le risque sanitaire doit être étudié.

<sup>40</sup> Tardillo Suárez V *et al.*, Environmental Science: Nano. 2020

<sup>41</sup> Groupe A.

## Les barrières physiologiques

La première cible du BaP, après son inhalation, est l'épithélium respiratoire mais il peut aussi franchir facilement les barrières physiologiques et atteindre d'autres organes en quelques minutes ou quelques heures *via* la circulation sanguine. Le placenta constitue, chez la femme enceinte, une deuxième barrière pour protéger le fœtus.

Ainsi, le BaP peut être métabolisé/bioactivé au niveau des barrières physiologiques, en formant des métabolites réactifs, capables de former des adduits au niveau de l'ADN. Ce qui suggère qu'il pourrait altérer leurs fonctions ou avoir des actions systémiques. En effet, le BaP est un puissant ligand<sup>42</sup> du récepteur des hydrocarbures aromatiques (AhR), un facteur de transcription qui régule l'expression de nombreux gènes de l'inflammation et du métabolisme des xénobiotiques<sup>43</sup>.

## Les co-expositions avec des nanoparticules

Pour une évaluation du risque sanitaire du BaP, il est également important d'étudier sa toxicité en mélange avec d'autres polluants issus de memes sources. En effet, des co-expositions avec des nanoparticules (NP) pourraient modifier sa toxicité. Il a été ainsi démontré que les NPs avaient la capacité d'agir comme de véritables « chevaux de Troie » c'est-à-dire d'adsorber les molécules formant une corona autour de la particule favorisant l'entrée de ces molécules dans l'organisme et les cellules. Cependant, les conséquences en termes de risques sanitaires de cette propriété n'ont pas encore été étudiées.

Les NPs de dioxyde de cérium (CeO<sub>2</sub>) sont utilisées, par exemple, comme catalyseur dans de nombreuses applications comme les filtres à particules des véhicules diesel, additif dans les cigarettes, les fours autonettoyants et la

dépollution de l'air intérieur. Le BaP présentant une affinité pour les particules en suspension dans l'air, la capacité des NPs à adsorber le BaP à leur surface pourrait non seulement modifier l'internalisation du BaP mais aussi changer sa cinétique de biotransformation dans les cellules et modifier ainsi sa toxicité. Les effets d'une co-exposition pourraient être exacerbés ou diminués par rapport à une exposition seule à ces polluants.

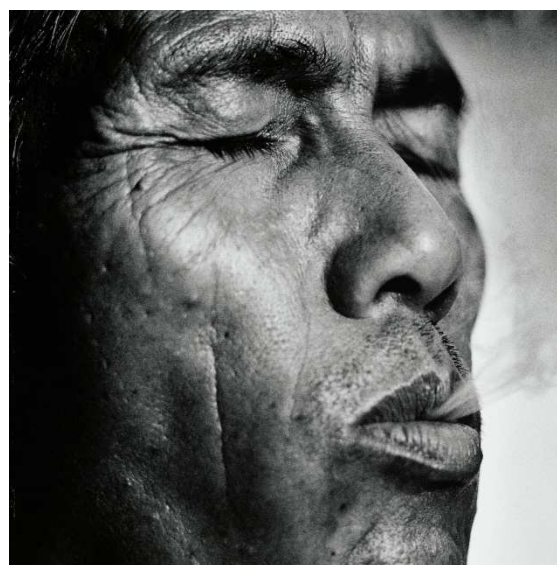


Illustration 6 : Exposition à la fumée de cigarette  
(Crédits : Getty Images)

## Le projet de recherche : BarBaPAhR

C'est la première étude évaluant l'effet d'une co-exposition du BaP avec des nanoparticules de CeO<sub>2</sub> alors que ces deux polluants sont souvent émis d'une manière concomitante (ex. fumée de cigarette, gaz d'échappement). Les objectifs du projet BarBaPAhR consistaient en une évaluation du risque sanitaire du BaP sur deux barrières physiologiques, broncho-pulmonaire et placentaire, autour de trois axes principaux :

1. La mise en évidence du profil d'expression du AhR dans le placenta humain au cours de la grossesse (premier trimestre et à terme) et dans l'épithélium bronchique au cours de la différenciation normale et pathologique ;

<sup>42</sup> Molécule qui se lie de manière réversible à un récepteur protéique et peut déclencher ainsi un cycle de motivations : effet activateur ou bloquant.

<sup>43</sup> Substances chimiques étrangères à l'organisme



2. L'effet d'une exposition au BaP sur l'intégrité et les fonctions des deux barrières<sup>44</sup>, notamment sur la fonction endocrine du placenta ;

3. L'effet d'une co-exposition au BaP et aux nanoparticules de CeO<sub>2</sub>.

### Résultats

Dans la littérature, AhR est généralement localisé dans le cytosol en absence des ligands exogènes, sauf dans le cas de cellules transformées tumorales. Pour la première fois, nous avons montré que le récepteur AhR est localisé dans les noyaux des trophoblastes<sup>45</sup> primaires et des cellules bronchiques primaires. De plus, nous avons démontré qu'AhR possède une activité transcriptionnelle de base. Ces résultats sont originaux ; ils supposent l'existence de voies intrinsèques d'activation d'AhR avec notamment, la présence de ligands endogènes activateurs<sup>46</sup>. Toutefois, ces résultats pourraient aussi être le reflet d'expositions quotidiennes de la population à des polluants environnementaux, notamment des femmes vivant à Paris<sup>47</sup> pendant leur grossesse.

Nos travaux sont les premiers visant à cartographier l'expression génique et protéique d'AhR et de ses gènes cibles, à la fois au fur et à mesure de l'avancement de la grossesse, de la différenciation (morphologique et fonctionnelle) des trophoblastes primaires ainsi que des cellules bronchiques primaires<sup>48</sup>. Ces données fondamentales ont une importance

cruciale pour la compréhension ultérieure des effets après exposition à des polluants environnementaux.

En ce qui concerne le deuxième volet de l'étude<sup>49</sup>, nos travaux ont montré une accumulation cellulaire et tissulaire du BaP au niveau du placenta avec notamment, sa présence dans les cellules endothéliales des vaisseaux fœtaux. Il perturbe également le fonctionnement normal du placenta avec une expression et une sécrétion accrue de certaines hormones peptidiques et facteurs essentiels pour le bon déroulement de la grossesse<sup>50</sup>, mais ne modifie pas les hormones stéroïdiennes. Ces résultats originaux démontrent un découplage entre le processus de différenciation morphologique<sup>51</sup> et la fonction endocrine augmentée et témoigne d'un effet perturbateur endocrinien. Au niveau bronchique, nous avons démontré une importante augmentation de l'activité métabolique des cultures primaires sans pour autant constater une augmentation de la prolifération cellulaire.

Le troisième volet consistait à comparer les effets du BaP et de nanoparticules de CeO<sub>2</sub> en expositions seules ou combinées. Au niveau bronchique, nous ne constatons aucun effet cytotoxique ou pro-inflammatoire aux concentrations et temps étudiés<sup>52</sup>, mais la présence des nanoparticules diminue les réponses au BaP (modification de la cinétique d'action par une rétention de BaP à la surface des NP). Au niveau placentaire, nous avons montré que les NPs de CeO<sub>2</sub> sont cytotoxiques à des doses relativement élevées pour les trophoblastes primaires<sup>53</sup>. Les mécanismes conduisant à ces effets cytotoxiques sont en cours d'analyse.

<sup>44</sup> Pour étudier la barrière broncho-pulmonaires, des lignées épithéliales bronchiques humaines NCI-H292 et Calu-3 ont été utilisées ainsi que des cellules primaires épithéliales bronchiques humaines. Pour la barrière placentaire, la lignée du choriocarcinome BeWo et des trophoblastes primaires de placenta humain à terme de grossesse (cytotrophoblastes et syncytiotrophoblastes) ont été utilisés ainsi que des modèles tissulaires placentaires de villosités chorales mises en culture sous forme d'explants.

<sup>45</sup> Cellule épithéliale de la vilosité chorale du placenta.

<sup>46</sup> Certains dérivés du tryptophane tel que la kynurénine

<sup>47</sup> Lieu de recueil des placentas.

<sup>48</sup> Différenciation nécessaire pour la reconstitution d'un épithélium bronchique fonctionnel.

<sup>49</sup> L'exposition au BaP.

<sup>50</sup> Tels que hCG, hPL, PLGF et GCM1.

<sup>51</sup> Diminution des syncytiotrophoblastes formés.

<sup>52</sup> Jusqu'à 80 µg/cm<sup>2</sup> pendant 48h.

<sup>53</sup> Supérieur 12,5 µg/cm<sup>2</sup> après 24h et 6.3 µg/cm<sup>2</sup> après 72h.

Publications :

**Uptake of Cerium Dioxide Nanoparticles and Impact on Viability, Differentiation and Functions of Primary Trophoblast Cells from Human Placenta.**

Nedder M, Boland S, Devineau S, Zerrad-Saadi A, Rogozarski J, Lai-Kuen R, Baya I, Guibourdenche J, Vibert F, Chissey A, Gil S, Coumoul X, Fournier T, Ferecatu I.

Nanomaterials (Basel). 2020 Jul 3;10(7):1309.

DOI: [10.3390/nano10071309](https://doi.org/10.3390/nano10071309)

**Expression, Localization, and Activity of the Aryl Hydrocarbon Receptor in the Human Placenta.**

Wakx A, Nedder M, Tomkiewicz-Raulet C, Dalmaso J, Chissey A, Boland S, Vibert F, Degrelle SA, Fournier T, Coumoul X, Gil S, Ferecatu I.

Int J Mol Sci. 2018 Nov 27;19(12):3762.

DOI: [10.3390/ijms19123762](https://doi.org/10.3390/ijms19123762)

## Les effets des nanoparticules de silice amorphe sur le système immunitaire

Effet des nanoparticules de silice amorphe sur le système immunitaire inné

**Thierry RABILLOU**, DR CNRS, LCBM, UMR 5249 CNRS-UGA-CEA, Grenoble

Équipes partenaires : **Saadia Kerdine-Römer**, Université Paris Sud 11, Inserm UMR 996, Châtenay-Malabry – **Marie Carrière**, CEA, DSM/INAC/SCIB/LAN, Grenoble

Projet de recherche (de 2015 à 2019) –  
Financement : 199.268€ – Contact : [thierry.rabilloud@cea.fr](mailto:thierry.rabilloud@cea.fr)

**Mots-clés** : silice, nanoparticule, synergie, monomère, matière plastique, solvant, adsorbant, immunotoxicité, génotoxicité, écotoxicologie, toxicologie, système immunitaire, activation, cellule, cellule dendritique, macrophage, *in vitro*

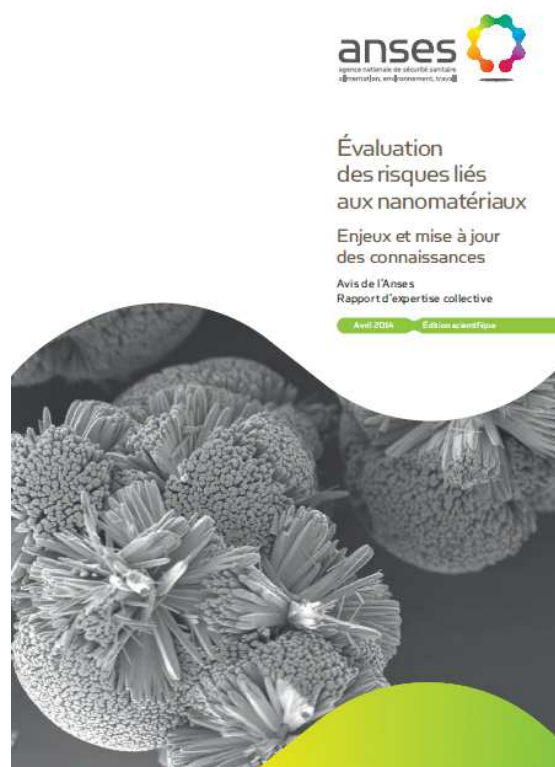


Illustration 7 : Évaluation des risques liés aux nanomatériaux (Anses, Édition scientifique, avril 2014)

La silice nanoparticulaire amorphe synthétique est l'un des nanomatériaux les plus produits, avec le noir de carbone. Cette forte production traduit une grande variété d'usages, purement industriels mais aussi cosmétiques, alimentaires ou pharmaceutiques. Cette diversité d'usages ainsi qu'une forte production représentent un fort potentiel d'exposition à la fois dans les milieux professionnels et dans la population générale, la toxicologie de la silice nanoparticulaire amorphe est particulièrement importante à étudier.

### Les cellules cibles

La silice nanoparticulaire amorphe présente un profil toxicologique particulier en termes de cellules cibles. Parmi celles-ci, les cellules phagocytaires<sup>54</sup> spécialisées du système

<sup>54</sup> On les appelle parfois les « cellules mangeuses » ou les « éboueurs » de l'organisme : du grec phagos- qui signifie « glouton » et -cyte qui signifie « cellule, cavité ». Ces cellules possèdent la propriété de détruire les microbes ou d'éliminer les micro- et nanoparticules

immunitaire inné représentent des types cellulaires particulièrement importants à étudier. En raison de leur capacité phagocytaire, ces cellules vont accumuler la silice qui peut ensuite perturber leur fonctionnement. Ceci peut se traduire, par exemple, par une activation incontrôlée du système immunitaire (sous la forme d'une réaction inflammatoire exacerbée et/ou persistante) ou par une diminution des capacités de réponse du système immunitaire, responsable alors d'une plus grande sensibilité aux maladies.

En outre, la diversité des usages fait que la silice nanoparticulaire amorphe va se rencontrer dans des environnements chimiques variés et souvent complexes.

### Les effets « cocktail »

La silice nanoparticulaire amorphe est utilisée, par exemple comme agent de charge<sup>55</sup> dans certains élastomères et plastiques. De ce fait, les travailleurs de ce secteur sont exposés à un « cocktail » de substances comprenant entre autres la silice, les monomères<sup>56</sup> desdits plastiques et les solvants de ces monomères. Les effets « cocktail » sont donc particulièrement importants à étudier dans le cas de la silice amorphe et ce d'autant plus que la silice est un excellent adsorbant<sup>57</sup> de substances hydrophiles ; elle est donc à même de jouer le rôle de « cheval de Troie » et de faire pénétrer dans les cellules, des toxiques autrement peu perméables.

Or, il est difficile d'étudier ces aspects (effets « cocktail » ou encore la susceptibilité accrue à des maladies) par l'expérimentation animale, que ce soit pour des raisons pratiques,

---

étrangères qui pénètrent dans les organismes en les digérant.

<sup>55</sup> Agent de renforcement (additif) incorporé dans la matière plastique.

<sup>56</sup> Unité de base des polymères : du grec *mono-* qui signifie « un ou un seul » et *-meros* qui signifie « partie ».

<sup>57</sup> Phénomène de surface par lequel des molécules se fixent sur une surface solide (adsorbant) depuis une phase gazeuse, liquide ou une solution solide.

économiques et éthiques. De telles dimensions physiologiques nécessitent donc d'être prises en compte dans le cadre d'une évaluation du risque sanitaire (au sens large), que ce soit dans la population générale ou dans des groupes professionnels.

### Le projet de recherche : Silimmun

Le but du projet Silimmun était de faire progresser les connaissances sur la toxicologie de la silice nanoparticulaire amorphe, en exploitant au mieux les potentialités des modèles *in vitro*, c'est-à-dire sans recourir à l'expérimentation animale. Deux types cellulaires appartenant au système immunitaire ont été utilisés : les cellules dendritiques et les macrophages.

- Les cellules dendritiques contrôlent le déclenchement de la réponse immunitaire adaptative, en activant les lymphocytes T. À ce titre, une possible activation incontrôlée pourrait conduire à une dérégulation des réponses immunitaires<sup>58</sup>.
- Les macrophages contrôlent en partie les réponses inflammatoires, dont on sait qu'elles sont au cœur des effets toxiques de certains matériaux biopersistants comme la silice cristalline ou l'amiante. Contrairement aux cellules dendritiques, les macrophages ont une durée de vie longue, jusqu'à quelques mois ; ces cellules peuvent donc conduire à des réponses soutenues dans le temps.

### Méthodologie

Deux types de nanoparticules de silice correspondant aux deux grands procédés de production ont été utilisés : une silice pyrolytique<sup>59</sup> et une silice précipitée<sup>60</sup>.

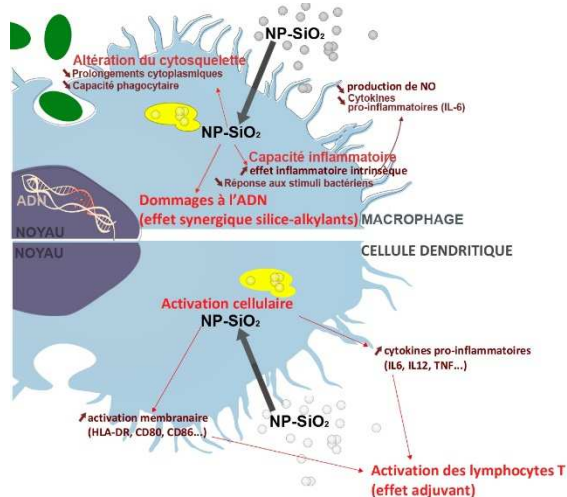
---

<sup>58</sup> Par exemple : en adsorbant un antigène normalement toléré et en activant le système immunitaire, la silice pourrait conduire à une rupture de tolérance et donc, à des réactions allergiques accrues.

<sup>59</sup> Produite par combustion.

<sup>60</sup> Produite par précipitation : mélange à partir d'une solution alcaline de silicate avec un acide minéral.

En complément des approches biologiques, comme nous disposons de quantités importantes de macrophages *via* des lignées continues, une étude mécanistique des effets de la silice nous a permis d'aborder de façon indirecte la toxicologie des « cocktails » de substances.



**Illustration 8 : Résumé des effets observés de la silice nanoparticulaire amorphe sur les cellules immunitaires étudiées**

### Résultats

Les études ciblées sur les macrophages ont fait apparaître une action assez paradoxale des nanoparticules de silice amorphe. Si les nanoparticules seules induisent une réaction pro-inflammatoire modérée et réversible, elles diminuent les capacités des macrophages à répondre à un stimulus bactérien, à la fois sur le plan de la production des cytokines pro-inflammatoires et sur le plan de la capacité phagocytaire. Ces résultats sont observés dans le cadre d'une exposition aiguë à une dose forte mais non toxique. Ces phénomènes apparaissent réversibles en 72h après l'arrêt de l'exposition et ne sont pas observés dans le cas d'une exposition répétée à une dose faible, alors même qu'une accumulation progressive de la silice est démontrée dans les cellules au cours d'une exposition répétée. Les résultats sont équivalents avec la silice pyrolytique et la silice précipitée.

L'étude mécanistique, quant à elle, a permis de mettre en évidence des réponses complexes des macrophages aux nanoparticules de silice amorphe. Le résultat le plus marquant est la mise en évidence d'indices laissant penser à une possible (géo)toxicité croisée entre nanoparticules de silice et agents alkylants<sup>61</sup> de l'ADN, liée à une diminution des systèmes de réparation de l'ADN<sup>62</sup>.

En conclusion, les nanoparticules de silice amorphe, si elles ne présentent pas le caractère pro-inflammatoire soutenu de la silice cristalline, présentent néanmoins des effets marqués sur les cellules du système immunitaire inné, qui pourraient conduire à des dérégulations des réponses immunes. Le sujet est cependant loin d'être totalement exploré. En particulier, la génotoxicité mériterait d'être analysée en détail à l'aune de la capacité d'internalisation de la silice vs. la défense intrinsèque des cellules contre le stress génotoxique.

#### Publications :

**How Reversible Are the Effects of Fumed Silica on Macrophages? A Proteomics-Informed View.**

Torres A, Dalzon B, Collin-Faure V, Diemer H, Fenel D, Schoehn G, Cianféroni S, Carrière M, Rabilloud T. *Nanomaterials (Basel)*. 2020 Sep 29;10(10):1939.

DOI: [10.3390/nano10101939](https://doi.org/10.3390/nano10101939)

PMID: 33003391 Free PMC article.

**Toxicity to RAW264.7 Macrophages of Silica Nanoparticles and the E551 Food Additive, in Combination with Genotoxic Agents.**

Dussert F, Arthaud PA, Arnal ME, Dalzon B, Torres A, Douki T, Herlin N, Rabilloud T, Carrière M. *Nanomaterials (Basel)*. 2020 Jul 21;10(7):1418.

DOI: [10.3390/nano10071418](https://doi.org/10.3390/nano10071418)

<sup>61</sup> Les agents alkylants et apparentés peuvent se fixer sur l'ADN (ex. sur un nucléotide) et bloquer ainsi sa réplication et/ou la transcription de l'ARN.

<sup>62</sup> Par exemple : toxicité croisée entre les nanoparticules de silice et l'oxyde de styrène, synergie génotoxique entre nanoparticules de silice et le méthanesulfonate de méthyle (MMS).

PMID: 32708108 Free PMC article.

How to Address the Adjuvant Effects of Nanoparticles on the Immune System.

Feray A, Szely N, Guillet E, Hullo M, Legrand FX, Brun E, Pallardy M, Biola-Vidamment A. *Nanomaterials* (Basel). 2020 Feb 28;10(3):425.

DOI: [10.3390/nano10030425](https://doi.org/10.3390/nano10030425)

PMID: 32121170 Free PMC article.

Repeated vs. Acute Exposure of RAW264.7 Mouse Macrophages to Silica Nanoparticles: A Bioaccumulation and Functional Change Study.

Torres A, Dalzon B, Collin-Faure V, Rabilloud T. *Nanomaterials* (Basel). 2020 Jan 27;10(2):215.

DOI: [10.3390/nano10020215](https://doi.org/10.3390/nano10020215)

PMID: 32012675 Free PMC article.

Differential proteomics highlights macrophage-specific responses to amorphous silica nanoparticles.

Dalzon B, Aude-Garcia C, Collin-Faure V, Diemer H, Béal D, Dussert F, Fenel D, Schoehn G, Cianférani S, Carrière M, Rabilloud T. *Nanoscale*. 2017 Jul 13;9(27):9641-9658.

DOI: [10.1039/c7nr02140b](https://doi.org/10.1039/c7nr02140b)

PMID: 28671223

## L'exposition cutanée aux nanoparticules métalliques

Développement d'un modèle expérimental pour l'étude de la décontamination de la peau après une exposition aux nanoparticules métalliques

**Céline BOUVIER-CAPELY**, IRSN, Laboratoire LRSI, Direction PSE-SANTÉ, Service SESANE, Fontenay-aux-Roses

Équipe partenaire : **Véronique Chamel**, CEA, Laboratoire de Biologie médicale, Grenoble

Étude de faisabilité (en cours depuis janv. 2020) –

Financement : 49.977 € – Contact : [celine.bouvier@irsn.fr](mailto:celine.bouvier@irsn.fr)

**Mots-clés** : exposition professionnelle, peau, nanoparticule, argent, dioxyde de titane, prévention, médecine travail, principe de précaution, hygiène professionnelle, hygiène peau, toxicologie, gestion risques, décontamination, absorption cutanée, dermatite, modèle, calixarène

Les dix dernières années ont vu s'intensifier les efforts de recherche sur la toxicologie et la prévention des risques associés aux nanoparticules (NP) mais la connaissance précise des effets sur la santé d'une exposition professionnelle aux NP n'est pas encore maîtrisée et l'application du principe de précaution est toujours d'actualité. Dans son avis de 2015, l'Anses soulignait l'insuffisance des connaissances actuelles permettant d'évaluer les risques liés aux NP d'argent et recommandait des efforts de recherche, notamment sur la caractérisation des expositions tant en milieu professionnel qu'environnemental<sup>63</sup>.

Si l'exposition respiratoire aux NP semble la plus préoccupante, l'exposition cutanée en milieu professionnel peut être également importante. L'exposition non-intentionnelle par voie cutanée peut résulter de l'absence de

<sup>63</sup> Anses, *Méthode d'évaluation des niveaux de risques sanitaires et des dangers écotoxicologiques des produits contenant des nanomatériaux nanomanufacturés*, Avis et rapport d'expertise collective, Avril 2015.

port d'équipement de protection cutanée (voire d'un équipement non adapté) et d'un contact direct avec des NP sous forme de poudre ou de liquide, d'un contact avec un objet contaminé ou du dépôt de NP présentes dans l'air, lors d'opérations routinières ou lors d'incidents.

### La voie d'exposition cutanée

Hormis les recommandations d'hygiène et de sécurité au poste de travail, il n'existe pas de recommandations médicales particulières pour la voie d'exposition cutanée. Les connaissances actuelles sur la pénétration cutanée des NP et l'impact associé sur la santé sont regroupées sous forme d'arbre de décision, prenant en compte les caractéristiques physico-chimiques des NP ainsi que les conditions d'exposition.

Bien que les possibilités de pénétration cutanée des NP jusqu'à la circulation systémique semblent faibles sur peau saine, les plus petites NP pourraient franchir la peau *via* les follicules pileux, les glandes sudoripares ou voie intercellulaire et constituer des réservoirs au niveau de la peau. Dans le cas des NP métalliques<sup>64</sup>, leur dissolution pourrait conduire à des effets locaux de type dermatite ou sensibilisation liés aux ions métalliques libérés. Une des questions importantes en cas de contamination accidentelle de la peau est de savoir comment la nettoyer efficacement.

### La décontamination de la peau

Très peu de données sont actuellement disponibles sur les moyens de décontamination de la peau contaminée avec des NP. Celles-ci indiquent qu'un lavage classique de la peau avec de l'eau et du savon pourrait augmenter la perméabilité de la peau et l'absorption systémique pour les contaminants solubles ou bien augmenter la concentration dans la peau de contaminants particuliers. De plus, un traitement par de l'eau savonneuse n'est pas

totallement efficace en cas de contamination des NP tant sur peau saine que lésée.

À noter : de nouvelles solutions pharmaceutiques sont disponibles pour la décontamination cutanée de contaminants non particuliers. Pour limiter, par exemple, la perméation de l'uranium soluble à travers des modèles de peau lésée, une crème lavante a récemment été développée, à base de calixarène<sup>65</sup>. Ce traitement prometteur sera donc envisagé et évalué en cas de contamination de la peau par des NP métalliques.

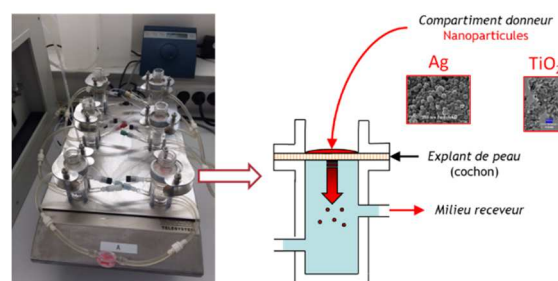


Illustration 9 : Plateau et schéma des cellules de diffusion de Franz (Hanson Research™) – Crédits : IRSN

### Le projet de recherche : NaPeauLi

L'objectif de cette étude de faisabilité est de développer un modèle expérimental adapté pour l'étude de la décontamination de la peau à des NP de type métallique : argent (Ag) et dioxyde de titane<sup>66</sup> (TiO<sub>2</sub>).

Le développement d'une méthode répond non seulement aux attentes concrètes des médecins du travail, mais il pourra aussi être extrapolé à la population générale.

### Méthodologie

Parmi les formules de nettoyage testées : un savon classique et un savon spécial, la crème lavante Cevindra® calixarène.

<sup>64</sup> Tonnages annuels les plus importants en France (Ministère de la Transition écologique et solidaire, 2017).

<sup>65</sup> Agent chélatant c'est-à-dire qui a la propriété de fixer durablement des ions métalliques pour former un complexe soluble et empêcher ainsi leur action nocive.

<sup>66</sup> Classé comme « peut-être cancérigène pour l'humain » (2B) par le Centre International de Recherche sur le Cancer.

Le projet est organisé en deux phases successives :

1. Mise en place du modèle de contamination<sup>67</sup> de la peau par les NP d'intérêt (Ag et TiO<sub>2</sub>) et optimisation des doses<sup>68</sup> à utiliser ;
2. Évaluation de l'effet des deux traitements de décontamination en fonction de plusieurs durées d'exposition.

### Résultats préliminaires

L'année 2020 a été consacrée à la première phase de ce projet et a consisté en la réalisation des études de diffusion transdermique des NP d'argent et de TiO<sub>2</sub> en comparaison avec les espèces métalliques solubles respectivement d'argent et de titane. Ces expérimentations ont été réalisées à l'aide de systèmes de cellules de Franz (cf illustration) sur des explants de peau d'oreille de cochons assez proche de la peau humaine. Les résultats qui ont été exploités à ce jour concernent les expériences réalisées avec l'argent (soluble et nanoparticulaire) sur peau excoriée, c'est-à-dire que la couche cornée a été enlevée des explants de peau. Les nanoparticules d'argent diffusent beaucoup moins à travers la peau, comparées à la forme soluble : ainsi, après 24H d'exposition cutanée, moins de 0,1 % de l'argent déposé sur la peau sous forme nanoparticulaire a traversé la peau, contre 8 % lorsque l'argent déposé sur la peau est soluble. Ces résultats vont maintenant être consolidés et complétés par des analyses de la fraction d'argent nanoparticulaire ayant traversé la peau ainsi que des fractions solubles et nanoparticulaires restées au dessus de la peau ou retrouvées dans la peau.

<sup>67</sup> Selon les recommandations de la norme AFNOR N° NF X 52-122 de 2016 qui définit « les méthodes d'essais permettant d'évaluer l'efficacité d'un dispositif de décontamination de la peau humaine après exposition à un agent contaminant de nature NRBC ».

<sup>68</sup> Une dose minimale et une dose maximale par NP.

## L'effet d'une contamination de cellules avec des nanoparticules

Le déséquilibre du pool de nucléotides comme biomarqueur de stress

**Jean-Luc RAVANAT**, CEA, IRIG/SyMMES/CIBEST, Grenoble

Équipe partenaire : **Caroline Desvergne**, CEA, DRT/SPNS/LBM, Grenoble

Étude de faisabilité (de 2016 à 2018) – Financement : 49.887 € – Contact : [jravanat@cea.fr](mailto:jravanat@cea.fr)

**Mots-clés** : étude faisabilité, méthode, dosage, argent, toxicité, nucléotide, nanoparticule, détection, spectrométrie masse, biomarqueur, stress oxydant, génotoxicité, enzyme, déséquilibre, dérégulation, cellule, ADN, ARN, *in vitro*, argent, chromatographie HPLC, protocole

Les organismes vivants sont continuellement exposés à des substances dites « génotoxiques », c'est-à-dire qui peuvent altérer l'information génétique portée par l'ADN. Ainsi, de nombreuses approches expérimentales physico-chimiques et/ou biochimiques ont été développées au cours de ces dernières décennies pour déterminer l'effet génotoxique de divers composés chimiques (ex. présence de dommages à l'ADN, aberrations chromosomiques, mutations).

### Le « pool » de nucléotides

Les nucléotides sont des molécules constitutives des acides nucléiques comme l'ADN et l'ARN - leur liaison déterminant la succession des bases impliquées, par exemple, dans la formation de la double hélice de l'ADN. Dans les cellules, les nucléotides participent à la régulation de l'expression génétique et bien évidemment à la synthèse des acides nucléiques.

Le maintien de la balance du « pool » de nucléotides est très finement régulé tout au long du cycle cellulaire. Par conséquent, toute dérégulation de cette balance peut avoir

des conséquences très délétères pour la cellule. Ainsi, la synthèse biologique des nucléotides implique de nombreuses enzymes ; l'inhibition ou l'activation d'une d'entre elles peut entraîner un déséquilibre comme en témoignent certaines maladies (ex. syndrome de Lesch-Nyhan<sup>69</sup>).

Récemment, nous avons montré<sup>70</sup> en utilisant une approche protéomique que des enzymes impliquées dans le métabolisme des nucléotides étaient dérégulées suite à une contamination avec des nanoparticules (NPs). Il paraît donc opportun de vérifier ces résultats préliminaires en appliquant la méthode développée dans ce projet. Ceci permettra notamment de comparer les résultats obtenus avec ceux d'études déjà réalisées sur la toxicité des NPs d'argent sur des cellules alvéolaires pulmonaires (A549), qui sont une cible potentielle aux nanoparticules.

### Le projet de recherche : NucPoolNanoTox

Le projet consiste à développer une méthode analytique permettant le dosage quantitatif des nucléotides intracellulaires, et à appliquer cette méthode pour étudier l'effet d'une contamination, *in vitro*, de cellules A549 avec des nanoparticules d'argent.

### Méthodologie

Une méthodologie basée sur la chromatographie liquide couplée<sup>71</sup> à la spectrométrie de masse en mode tandem (HPLC-MS/MS) a été développée pour détecter les différents nucléotides endogènes, à savoir les quatre bases nucléiques dans l'ADN

<sup>69</sup> Maladie héréditaire du métabolisme des purines. Due à un déficit de l'enzyme hypoxanthine-guanine phosphoribosyl-transférase (HGPRT), elle entraîne un retard de développement de l'enfant (troubles neurologiques et comportementaux).

<sup>70</sup> En collaboration avec l'équipe de Thierry Rabilloud du CEA Grenoble. Aude-Garcia, C., et al. (2016) *A combined proteomic and targeted analysis unravels new toxic mechanisms for zinc oxide nanoparticles in macrophages*. *J. Proteomics* 134, 174\_185.

<sup>71</sup> Par le biais d'une ionisation électrospray.

(désoxyribonucléotide) et les quatre bases différentes dans l'ARN (ribonucléotide) sous forme mono-, di-, ou tri-phosphate.

1. La première étape consistait à préparer des solutions calibrées (standards ou étalons<sup>72</sup>) des nucléotides en utilisant principalement des produits commerciaux ;
2. La deuxième phase consistait à déterminer, à partir de protocoles déjà décrits, des conditions de séparation chromatographique compatibles avec la spectrométrie de masse ;
3. L'étape suivante concernait la mise au point d'un protocole d'extraction des nucléotides à partir des cellules en culture, tout en minimisant le problème de déphosphorylation (perte d'un groupe phosphate)<sup>73</sup> ;
4. La dernière partie du projet visait à déterminer si un traitement de cellules avec des NPs d'argent pouvait induire un déséquilibre du « pool » de nucléotides. Ainsi, des cellules ont été traitées avec deux types de NPs d'argent (inférieurs à 20 ou 100nm) et à deux concentrations ou bien avec un sel d'argent servant d'élément de comparaison car la toxicité des NPs d'argent semble provenir de leur solubilisation.

### Résultats

Dans ces conditions, une diminution significative de guanosine triphosphate (GTP) et d'adénosine triphosphate (ATP) a été observée. Une baisse de thymidine triphosphate (TTP) et d'uridine triphosphate (UTP) a été également mesurée. Les effets sont plus importants suite au traitement par les plus grosses nanoparticules, celles dont la

<sup>72</sup> Ces standards permettront ensuite de garantir l'aspect quantitatif de la méthode utilisée.

<sup>73</sup> Les premiers essais ont montré une importante déphosphorylation des nucléotides lors de l'hydrolyse des cellules, notamment en utilisant un mélange 50/50 méthanol-eau comme solution de lyse. Peu de travaux avaient fait été de ce problème auparavant, certainement parce qu'il n'est pas facile à mettre en évidence.



dissolution est la plus faible. À noter que ces baisses sont beaucoup moins importantes (voire inexistantes) suite au traitement par les sels d'argent. Ceci suggère que l'effet observé n'est pas lié à la dissolution des nanoparticules.

Ce projet a permis de développer et valider une approche analytique basée sur la chromatographie liquide haute performance couplée à la spectrométrie de masse en mode tandem pour détecter et quantifier, après extraction, les nucléotides intracellulaires. Cette méthode a permis de montrer qu'un traitement des cellules (A549) par des nanoparticules entraîne une baisse significative des nucléotides triphosphates intracellulaires (notamment, ATP et GTP) alors que ces taux ne sont pas impactés lors du traitement des mêmes cellules par des sels d'argent.

## Comment éliminer les micropolluants dans l'eau ?

Systèmes bioinspirés pour la décontamination des nanoparticules

**Philippe BARTHÉLÉMY**, Laboratoire ARNA, Université Bordeaux Inserm U1212, Bordeaux

Équipe partenaire : **Alain Thiéry**, Aix Marseille Université, Faculté des Sciences St Charles, Marseille

Projet de recherche (de 2015 à 2018) –  
Financement : 160.160 € – Contact :  
[philippe.barthelemy@inserm.fr](mailto:philippe.barthelemy@inserm.fr)

<p><b>Mots-clés</b> : micropolluant, nanoparticule, contaminant, pollution eau, bioaccumulation, eau usée, traitement effluent, décontamination, prototype, biosurveillance, modèle, <i>aurelia aurita</i>, méduse</p>
--

Notre société assiste actuellement à l'émergence de nouveaux polluants issus de la production et de l'utilisation des nanomatériaux à l'échelle mondiale, d'une part et la présence de « cocktails » de micropolluants dans les eaux usées, d'autre part.

### Le traitement des eaux usées

Les micropolluants sont des contaminants bioactifs et persistants qui ne peuvent pas être complètement éliminés avec les méthodes traditionnelles de traitement des eaux usées et qui ne sont pas complètement biodégradables. Lorsqu'ils sont rejetés en permanence dans les effluents d'eaux usées, ils peuvent entraîner des risques à moyen ou long terme, car ces contaminants se « bio-accumulent » et peuvent même former de nouveaux mélanges dans l'eau. Les effets exacts de ces contaminants ne sont pas encore complètement connus, ce qui inquiète les autorités de santé de l'Union européenne (UE).

Pour respecter les normes environnementales définies par l'UE, à compter de septembre 2015, les pays membres doivent surveiller régulièrement la présence des substances répertoriées<sup>74</sup>.

### Le projet de recherche : NANODECO

Face à cette problématique, le projet NANODECO s'est fixé pour objectif de proposer de nouvelles solutions pour la décontamination des eaux usées et de développer de nouveaux bio-indicateurs.

Deux approches innovantes ont été testées basées sur des :

- Matériaux naturels d'une part : mucus obtenu à partir de méduse ;
- Systèmes synthétiques d'autre part : molécules artificielles bio-inspirées<sup>75</sup> capables de piéger les nanoparticules (inférieures à 50 nm de diamètre) et les micropolluants (ex. perturbateurs endocriniens, médicaments, pesticides).

Un objectif important était de démontrer l'efficacité de cette double technologie dans différentes situations, imitant différentes conditions, y compris l'environnement naturel, les laboratoires, les sites de production de nanoparticules, etc.

### Méthodologie

Le projet NANODECO a été élaboré autour de quatre tâches :

1. Synthèse des dérivés<sup>76</sup> pour la décontamination suivant trois variables structurales : sucre, nucléoside et lipides. La stratégie de synthèse dite « double

*click* »<sup>77</sup> a permis d'accéder à une pluralité de structures en quantités compatibles avec les applications de décontamination.

2. Capacité de décontamination de ces molécules : ce travail a permis d'identifier les composés les plus efficaces pour la décontamination des nanoparticules (NP) en phase liquide et en surface. Il a été aussi démontré, dans cette phase, que le mucus de méduse constituait un rempart naturel, capable de débarrasser les eaux des nanoparticules.
3. Mise en place de nouveaux bio-indicateurs hautement sensible à la pollution : la bio-surveillance a été axée sur divers polluants, notamment les nanoparticules libérées par les activités humaines (ex. NP d'argent), les produits phytopharmaceutiques (ex. propranolol, diclofénac) et les pesticides (ex. glyphosate). L'utilisation des méduses comme bio-indicateurs a été validée : plus particulièrement les *éphyrules*, qui sont hautement sensibles à la pollution aux nanoparticules et aux « cocktails » de micropolluants.
4. Afin de proposer plusieurs prototypes pour la décontamination, trois systèmes ont été évalués : hydrogel, poudres, liquides ioniques et lingettes.

### Résultats

Outre les publications, brevets et communications inhérentes à ce programme, les résultats collectés montrent l'importance de l'approche multidisciplinaire bio-inspirée pour répondre aux enjeux éco-environnementaux actuels.

Sur la base des résultats obtenus, la technologie de dépollution est maintenant en cours de développement avec différents partenaires industriels et académiques. Par ailleurs, grâce aux données collectées sur le volet bio-indicateur, il a été proposé à l'Anses

---

<sup>74</sup> Directive 2000/60/CE du 23/10/2000 établissant un cadre pour une politique communautaire dans le domaine de l'eau (liste des substances prioritaires en annexe X).

<sup>75</sup> Inspirées de la nature.

<sup>76</sup> Amphiphiles (c'est-à-dire dérivés à la fois hydrophiles et hydrophobes) bio-inspirés.

---

<sup>77</sup> La chimie « click » permet de synthétiser des produits de manière rapide et efficace.

de faire évoluer les normes relatives à la qualité des eaux : en particulier, l'utilisation du modèle d'écotoxicologie comportementale basé sur l'analyse cinétique des larves éphyrae d'*Aurelia aurita* permettrait d'avoir une lecture plus fine, plus directe (temps réel), et plus sensible de l'état de décontamination (mobilité, fréquence) que la simple détermination de la toxicité aiguë vis-à-vis de *Daphnia magna* (Crustacea, Cladocera)<sup>78</sup>, lecture de la toxicité basée sur le 'end point', c'est-à-dire le pourcentage de mortalité des biotests. Des études récentes ont montré que, bien que ces tests soient normalisés AFNOR, les lectures pouvaient être biaisées (sur- ou sous-évaluées) d'une part par des erreurs d'identifications taxonomiques des biotests (possibilité de confusion d'espèces), et d'autre part le l'état physiologique des biotests (phases de mue, exuviation...)<sup>79</sup>.



Illustration 10 : Femelle *Daphnia magna* portant un ephippium (Auteur : Dieter Ebert, Bâle – [CC-BY-4.0](https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/))

Précisons que les tests comportementaux basés sur la nage des larves éphyrales présentent plusieurs avantages :

- Simplicité, par enregistrement automatique en continu ;
- Très grande surface de contact avec le milieu ;
- Contacts organisme/eau sans cuticule de chitine (cas des daphnies).

Les tests fonctionnent dans les deux sens, d'une part caractériser un milieu suspecté d'être pollué (en STEP par exemple, ou rejets dans les milieux naturels), ET dans le sens d'une **preuve** qu'un milieu a bien été décontaminé.

#### Publications :

Alies, B., Ouelhazi, M. A., Noireau, A., Gaudin, K., Barthélémy, P. (2019). Silver Ions Detection via Nucleolipids Self-Assembly. *Analytical Chemistry*, 91(3), 1692-1695.

DOI: [10.1021/acs.analchem.8b04066](https://doi.org/10.1021/acs.analchem.8b04066)

Latxague, L., Gaubert, A., Barthélémy, P. (2018). Recent advances in the chemistry of glycoconjugate amphiphiles. *Molecules*, 23(1).

DOI: [10.3390/molecules23010089](https://doi.org/10.3390/molecules23010089)

Latxague, L., Gaubert, A., Maleville, D., Baillet, J., Ramin, A. M., Barthélémy, P. (2016). Carbamate-Based Bolaamphiphile as Low-Molecular-Weight Hydrogelators. *Gels*, 2(4).

DOI: [10.3390/gels2040025](https://doi.org/10.3390/gels2040025)

Ramin, M. A., Latxague, L., Sindhu, K. R., Chassande, O., Barthélémy, P. (2017). Low molecular weight hydrogels derived from urea based-bolaamphiphiles as new injectable biomaterials. *Biomaterials*, 145, 72-80.

DOI: [10.1016/j.biomaterials.2017.08.034](https://doi.org/10.1016/j.biomaterials.2017.08.034)

Ramin, M. A., Sindhu, K. R., Appavoo, A., Oumzil, K., Grinstaff, M. W., Chassande, O., Barthélémy, P. (2017). Cation Tuning of Supramolecular Gel Properties: A New Paradigm for Sustained Drug Delivery. *Advanced Materials*, 29(13).

DOI: [10.1002/adma.201605227](https://doi.org/10.1002/adma.201605227)

<sup>78</sup> NF EN ISO 6341, Décembre 2012.

<sup>79</sup> Auffan *et al.*, 2013, *Water Res.*, 47.

## Le cycle de vie de nanoparticules chez l'humain

Cycle de vie de nanoparticules chez l'humain : rôle de la séquestration lysosomale

**Florence GAZEAU**, Université de Paris, Laboratoire Matière et Systèmes complexes, Paris

Équipe(s) partenaire(s) : **Damien Alloyeau**, Université de Paris, Laboratoire Matériaux et Phénomènes quantiques, UMR/CNRS – **Bruno Gasnier**, Université de Paris, CNRS, UMR 8250 – **Alberto Bianco**, Institut de Biologie moléculaire et cellulaire, CNRS, UPR 9201, ICT, Strasbourg – **Elias Fattal**, Université Paris Saclay, CNRS UMR 8612, Châtenay Malabry

Projet de recherche (en cours depuis 2018) –  
Financement : 199.680 € – Contact : [florence.gazeau@univ-paris-diderot.fr](mailto:florence.gazeau@univ-paris-diderot.fr)

**Mots-clés** : nanotube carbone, nanoparticule, nanoparticule d'or, graphite, cycle de vie, cellule, macrophage, appareil respiratoire, lysosome, bioaccumulation, dégradation biologique, biominéralisation, persistance, recyclage, mécanisme action, endocytose, phagocytose, stress oxydant, inflammation, modèle animal, souris, biomarqueur

Récemment, des chercheurs de l'Université de Paris Saclay ont trouvé des nanotubes de carbone (CNT) dans les poumons d'enfants asthmatiques vivant en région parisienne<sup>80</sup> : plus précisément dans les cellules des voies respiratoires. Ces nanotubes pourraient provenir de la pollution de l'air et entraîner des effets négatifs sur la santé. Sachant qu'ils sont similaires à ceux présents dans les gaz d'échappement des véhicules, dans les poussières prélevées à différents endroits de la ville mais aussi dans l'air ambiant, ces CNT focalisent d'autant plus l'attention des chercheurs qu'ils ouvrent des perspectives prometteuses, dans le domaine médical

<sup>80</sup> À partir d'échantillons de liquides de lavage broncho-alvéolaires d'enfants asthmatiques congelés à l'hôpital Trousseau (Paris) cf. *Kolosnjaj et al, EBioMedicine, 2, 1697–1704, 2015*.

notamment. Mais que deviennent-ils une fois qu'ils sont dans l'organisme humain ? Comment se dégradent-ils ? Y a-t-il des mécanismes spécifiques de prise en charge de ces nanoparticules, en fonction de leur forme ou de leur composition ?

Composés d'un ou de plusieurs feuillets de graphène, les CNT sont parfois décrits comme des fibres de carbone. Ce qui suggère qu'ils pourraient agir comme des fibres d'amiante et font, à ce titre, l'objet de nombreuses interrogations. D'autres types de nanoparticules, particulièrement les nanoparticules métalliques, sont très présentes dans l'environnement ou encore l'alimentation, et peuvent se retrouver dans nos tissus. En dépit de la diversité des nanoparticules auxquelles nous sommes exposés, existe-t-il des mécanismes communs mis en œuvre par nos cellules pour prendre en charge ces nanoparticules, les dégrader ou les assimiler ?

### Le lysosome

Considéré comme la « déchetterie » de la cellule, le lysosome est une petite structure cellulaire (organite) qui contient des enzymes, responsables de la digestion ou de la dégradation des composants cellulaires (ex. protéines, sucres, lipides, acides nucléiques). De ce fait, il participe aussi au recyclage de ces composants, qu'ils soient intra- ou extracellulaires.

Certaines substances étrangères (ou extérieures à l'organisme) ne sont a priori pas digérables par le lysosome. Après avoir été inhalées, elles peuvent alors s'accumuler dans les cellules, entraînant un mauvais fonctionnement du lysosome, qui pourrait ne plus pouvoir digérer certains déchets cellulaires.

### Le cycle de vie des nanoparticules

La plupart des nanoparticules, telles que les nanotubes de carbone ou les nanoparticules métalliques, sont captées par les cellules macrophagiques et convergent vers le

lysosome sans que nous connaissions vraiment leur cycle de vie. Quel est leur devenir à long terme dans les cellules ? Sont-elles séquestrées en restant intactes, ou détruites et recyclées ? Ont-elles un impact sur la fonction lysosomale ?

Selon les structures (uni-, bi- ou tri-dimensionnelle<sup>81</sup>), la composition (inorganique ou organique, métallique ou non), les caractéristiques physico-chimiques de la surface des nanoparticules, les mécanismes d'internalisation cellulaire et surtout de prise en charge par les lysosomes sont encore mal compris. Quels nano-objets faut-il privilégier : réactifs et rapidement biodégradables ou inertes et persistants<sup>82</sup> ? D'une part, les processus de dégradation des nanoparticules et leurs sous-produits peuvent provoquer des réactions biologiques inattendues. D'autre part, l'accumulation de nanoparticules persistantes (ou lentement dégradables) peut saturer le lysosome et perturber ses fonctions essentielles au bon fonctionnement cellulaire.

### Le projet de recherche : CycCar

L'objectif principal du projet CycCar est de comprendre la prise en charge au niveau du lysosome de nanotubes de carbone et de graphène en milieu biologique. Il vise à étudier le lien entre l'accumulation et les transformations de ces nanoobjets observés à l'échelle nanométrique dans le lysosome et les mécanismes biochimiques complexes qui peuvent en résulter, suivant trois axes :

1. L'adaptation potentielle des voies lysosomales aux nanostructures et à leur accumulation
2. Les mécanismes de dégradation à long terme des nanoparticules dans les compartiments du lysosome (selon leurs caractéristiques : taille, morphologie, structure...);

3. Les interactions potentielles entre les nanoparticules et la genèse et/ou le développement des maladies lysosomales.

### Méthodologie

Grâce à des observations multiéchelles par des technologies de pointe, en particulier par la microscopie électronique, nous proposons, à l'interface des sciences des matériaux et du vivant, d'identifier et d'étudier la réponse adaptative des cellules aux nanoparticules<sup>83</sup> et de déterminer les transformations cellulaires de ces nanoparticules à long terme *in vitro* et *in vivo* chez la souris.

### Résultats préliminaires

Nos études antérieures avaient montré que des CNT multiparois pouvaient être dégradés dans les lysosomes par un mécanisme impliquant un stress oxydatif<sup>84</sup>. Par microscopie électronique, on pouvait observer dans les nanotubes séquestrés au sein des lysosomes, des trous s'élargissant au cours du temps dans les cellules exposées. De manière remarquable, ces dégradations dans les parois des tubes et l'amincissement des parois étaient également observées par microscopie électronique en milieu liquide sous l'effet de la radiolyse de l'eau par le faisceau d'électrons. Ce sont donc les espèces réactives de l'oxygène qui sont responsables de la dégradation des nanotubes, dans la cellule ou sous le faisceau d'électrons. En bloquant chimiquement ces espèces réactives de l'oxygène dans la cellule, on

<sup>81</sup> 1D, 2D ou 3D.

<sup>82</sup> C'est-à-dire qui resteront « inactifs » dans l'organisme.

<sup>83</sup> Fibroblastes exposés aux CNT (1D/2D) *in vitro* ou cellules isolées suite à un lavage broncho-alvéolaire après l'exposition pulmonaire de souris.

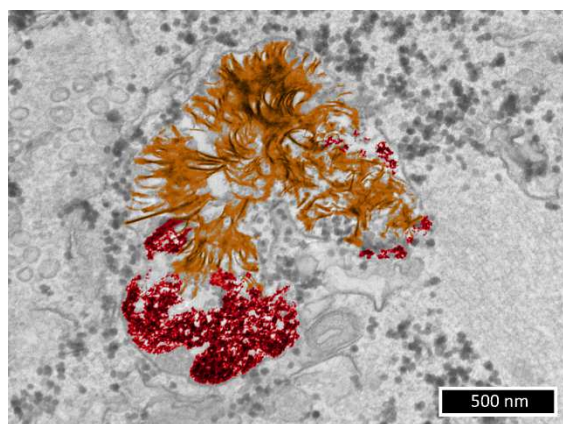
<sup>84</sup> Carbon Nanotube Degradation in Macrophages: Live Nanoscale Monitoring and Understanding of Biological Pathway Elgrabli D, Dachraoui W, Ménard-Moyon C, Liu XJ, Bégin D, Bégin-Colin S, Bianco A, Gazeau F, Alloyeau D. *ACS Nano*. 9(10):10113-24 (2015)

Intracellular degradation of functionalized carbon nanotube/iron oxide hybrids is modulated by iron via Nrf2 pathway. Elgrabli D, Dachraoui W, Marmier H, Ménard-Moyon C, Bégin D, Bégin-Colin S, Bianco A, Alloyeau D, Gazeau F. *Sci Rep*. 2017 Jan 25;7:40997.

DOI: [10.1038/srep40997](https://doi.org/10.1038/srep40997)

inhibe également le processus de dégradation des nanotubes de carbone.

Pour comprendre si ce mécanisme de prise en charge pouvaient être généralisé à d'autres types de nanoparticules, nous avons exploré le cas de nanoparticules d'or réputées inaltérables par la cellule, l'or étant un des métaux les plus inertes. Ces nanoparticules quelles que soient leur taille entre 4 et 40 nm, sont séquestrés dans les lysosomes. Nous avons mis au point un modèle cellulaire de fibroblastes de peau dans lequel on peut suivre les transformations de nanoparticules pendant plusieurs mois. De manière inattendue, nous avons observé que les nanoparticules d'or subissaient en quelques semaines des transformations importantes au sein des lysosomes des fibroblastes. Nous avons ainsi constaté à la fois la présence de nanoparticules non dégradées et de produits de dégradation prenant la forme de nano-feuillets (Illust. 11).



**Illustration 11 :** Image d'un lysosome observé en microscopie électronique en transmission, une méthode capable de révéler la forme de nanoparticules au sein même des cellules<sup>85</sup> (Crédits : Alice Balfourier et Christine Péchoux-Longin)

De plus, en mesurant l'expression de plus de 18.000 gènes au cours du temps, nous avons mis en évidence un processus biologique mettant en jeu des mécanismes de

détoxification et de protection cellulaire, également impliqués dans la dégradation d'autres nanomatériaux, en particulier les nanotubes de carbone évoqués ci-dessus. Plus particulièrement le stress oxydatif serait également à l'œuvre dans l'oxydation des nanoparticules d'or et leur dégradation intracellulaire.

À notre surprise, en fouillant la littérature de plusieurs décennies sur les traitements médicamenteux à base de sel d'or, nous nous sommes rendu compte que les nano-feuillets que nous observons lors de la dégradation des nanoparticules d'or, avaient déjà été observés<sup>86</sup> chez des patients souffrant de polyarthrite rhumatoïde, et qui avaient été traités avec une autre forme d'or (de l'or ionique ou « sels d'or ») pour soulager leurs douleurs articulaires.

En comparant les expressions géniques des cellules exposées aux sels d'or et aux nanoparticules d'or, nous avons mis en évidence des similarités à long terme, suggérant un métabolisme commun de prise en charge de sels d'or, des nanoparticules d'or et de leurs produits de dégradation. Cette étude met également en évidence un mécanisme de recristallisation intracellulaire de l'or impliquant des protéines endogènes liées aux métaux, telles que les métallothionéines.

Ce résultat inattendu, qui généralise le devenir des nanoparticules d'or dans l'organisme, pourrait permettre, à l'avenir, de mieux évaluer la toxicité de ces nanoparticules et leur capacité à être éliminées de l'organisme ou recyclées par les protéines endogènes. Ce travail interdisciplinaire met également en lumière que l'or<sup>87</sup> peut être métabolisé par les mammifères, même s'il n'est pas essentiel à leur survie.

Beaucoup de questions subsistent quant aux mécanismes de dégradation de nanoparticules

<sup>85</sup> Les produits de dégradation sont composés de cristaux d'or de 2 nm de diamètre auto-organisés en nano-feuillets. Les nanoparticules non dégradées sont en rouge et les produits de dégradation en orange.

<sup>86</sup> Il y a bientôt cinquante ans.


<sup>87</sup> Quel que soit sa forme initiale.

et sur la manière dont leur composition<sup>88</sup> ou leur architecture<sup>89</sup> conduisent à des processus communs ou différents de prise en charge au niveau du lysosome. Nos études actuelles explorent des jeux de données en libre accès sur la réponse transcriptomique de cellules à différents types de nanoparticules par une approche de méta-analyse. Nous cherchons à mettre en évidence, en analysant par des méthodes statistiques les nombreuses données de la littérature, les similarités éventuelles dans la réponse cellulaire à différents types de nanoparticules, dont les nanotubes de carbones ou les graphènes en comparaison à diverses nanoparticules métalliques.

**Publications :**

Unexpected intracellular biodegradation and recrystallization of gold nanoparticles. A Balfourier, N Luciani, G Wang, G Lelong, O Ersen, A Khelfa, D Alloyeau, F Gazeau\*, F Carn\*

*Proceedings of the National Academy of Sciences* 2020, 117 (1) 103-113;

DOI: [10.1073/pnas.1911734116](https://doi.org/10.1073/pnas.1911734116) 

Gold-based therapy : from past to present. Balfourier, A, Kolosnjaj-Tabi J, N Luciani, F Carn, F Gazeau, *Proceedings of the National Academy of Sciences* 2020 117 (37), 22639-22648

<https://doi.org/10.1073/pnas.2007285117> 

<sup>88</sup> Carbone, or et autres métaux.

<sup>89</sup> 2D ou 3D.

## Les microplastiques

Chaque année, 8 millions de tonnes de plastiques finissent dans l’océan, après avoir transité par les rivières, les côtes littorales, etc. Une fois dans l’environnement, ces débris peuvent être transportés par les vents, exposés à la lumière, aux rayons du soleil, etc. Ils peuvent flotter à la surface de l’eau, être présents à différents niveaux de profondeur, voire se déposer dans les fonds marins.

Tous ces phénomènes entraînent leur fragmentation en taille plus ou moins petite. Lorsque la taille est inférieure à 5 millimètres (mm), on parle de microplastiques. Invisibles à l’œil nu, les microplastiques<sup>90</sup> et les nanoplastiques<sup>91</sup> posent de plus en plus de questions à la recherche et suscitent un intérêt croissant<sup>92</sup>.

Les études scientifiques menées récemment autour de la planète montrent que ces microplastiques sont ubiquitaires. On les retrouve dans tous les compartiments de l’environnement (sols, air, eau...), dans toutes les régions du globe : des zones côtières les plus peuplées aux zones polaires. Ils sont aussi présents dans les sédiments et la plupart des organismes marins étudiés : des plus petits (comme le zooplancton) aux plus grands (comme les baleines) qui peuvent les ingérer.



Illustration 12 : Déchets plastiques à la surface de l’eau (Crédits : iStockPhoto)



Illustration 13 : Pollution plastique et tortue de mer (Crédits : iStockPhoto)

## Les plastiques les plus retrouvés

Aujourd’hui, les plastiques les plus retrouvés dans l’environnement sont :

- Le **polyéthylène** (PE) de haute densité utilisé, par exemple, dans la fabrication de flacons et bouteilles et le **polyéthylène** de faible densité utilisé dans la fabrication des films, sachets et sacs plastiques ;
- Le **polypropylène** (PP), composant utilisé, par exemple, pour la fabrication des emballages alimentaires, de pièces moulées (industrie automobile), des gaines et fils électriques ;
- Le **polystyrène** (PS), souvent utilisé comme dispositif d’isolation et de protection dans les emballages.

<sup>90</sup> Inférieurs à 20 micromètres ( $\mu\text{m}$ ).

<sup>91</sup> Inférieurs à 100 nanomètres (nm) ou 1 micromètre, suivant les communautés scientifiques.

<sup>92</sup> À noter : la fragmentation des microplastiques en particules de taille inférieure au micromètre ( $\mu\text{m}$ ) est non évaluée à ce jour avec la difficulté de pouvoir détecter ces plus petites particules de plastiques.



Ces trois types correspondent aux principaux polymères utilisés pour la fabrication des matières plastiques mais cette typologie ne rend pas compte de la très grande diversité des formulations existantes.

### La composition du plastique

Les matières plastiques sont composées principalement de polymères (matière de base) et de l'ajout d'additifs :

- Charges (ex. minérales, organiques, fibreuses) qui permettent de jouer sur certaines propriétés (ex. adhésion, pouvoir couvrant), sa densité et son coût ;
- Plastifiants (ex. phtalates) qui permettent d'améliorer sa souplesse, sa flexibilité et sa facilité de mise en œuvre ;
- D'autres additifs qui confèrent au mélange des propriétés spécifiques (ex. bactéricide, pigments, anti-UV, lubrifiants, retardateurs de flamme...).

Ces différents composants sont de potentiels contaminants chimiques. De plus, les bactéries qui se fixent à la surface des plastiques peuvent, elles-mêmes, être des contaminants biologiques. Cette complexité est susceptible d'affecter la dégradation des plastiques dans l'environnement. Comme l'indique Guillaume Brotons, les particules restent rarement « nues » dans un milieu biologique. « *Elles sont rapidement recouvertes par des molécules de l'environnement* » : essentiellement des protéines. On parle alors de couronne de protéines (corona). Cette nouvelle formation va influencer sur le devenir du plastique dans l'eau : d'où la nécessité de lever les verrous scientifiques pour mieux comprendre ces mécanismes d'interaction<sup>93</sup>.



Illustration 14 : Bouteille collectée sur la plage et organismes marins (Crédits : iStockPhoto)

---

<sup>93</sup> Guillaume Brotons, *Les microplastiques et leur couronne de protéines (corona)*, pp. 33-35.

## Les interactions avec la vie aquatique

Si les sources des microplastiques commencent à être bien identifiées, leurs voies de transformation, de dégradation et leur interaction avec la vie aquatique sont encore méconnues ainsi que l'impact de l'exposition pour l'Homme.

Les résultats des travaux conduits par Laury Gauthier montrent la complexité des problèmes à considérer et appellent à une prise de conscience tant il est « *quasiment impossible de prédire les effets biologiques potentiels des différentes fractions de plastiques qui constituent dans la nature, un continuum de tailles allant des macro objets aux nanoparticules* »<sup>94</sup>.

Ainsi, Amélie Chatel étudie dans l'estuaire de la Gironde le transfert des micro- et nanoplastiques dans les chaînes alimentaires, notamment sur différents organismes qui vivent dans le continuum eau douce/eau marine : algues phytoplanctoniques, mollusques bivalves et anguilles européennes<sup>95</sup>. Pour analyser les particules de taille micrométrique, voire nanométrique, qui sont avalées par des organismes marins filtreurs tels que les moules, Marie-Hélène Ropers propose des techniques innovantes basées notamment sur le couplage entre la spectroscopie Raman et la microscopie électronique à balayage. « *Ce qui permettra d'obtenir des données sur l'état des microplastiques après consommation de moules contaminées, jusqu'ici inconnu* »<sup>96</sup>.

Enfin, l'Homme étant largement exposé aux particules de micro- et nanoplastiques, par voie aérienne mais aussi par voie orale, Olivier Fardel s'inquiète de l'effet de ces composés sur les barrières intestinale et pulmonaire : les interactions potentielles susceptibles de se déclencher à l'intérieur même des cellules humaines<sup>97</sup>.

---

<sup>94</sup> Laury Gauthier, *Micro- et nanoplastiques dans les eaux continentales*, pp. 36-38.

<sup>95</sup> Amélie Chatel, *Le transfert des micro- et nanoplastiques dans les chaînes alimentaires*, pp. 39-41.

<sup>96</sup> Marie-Hélène Ropers, *Les microplastiques et le risque lié à la consommation de moules contaminées*, pp. 41-42.

<sup>97</sup> Olivier Fardel, *Effets potentiels de micro-et nanoplastiques sur des cellules humaines*, pp. 43-44.

## Les microplastiques et leur couronne de protéines (corona)

Suivi des polluants microplastiques en interaction avec protéines et milieux biologiques

**Guillaume BROTONS**, Université du Maine, IMMM, UMR CNRS 6283, Le Mans

Équipes partenaires : **Yves Boulard**, CEA, Laboratoire de Biologie structurale et Radiobiologie, Gif-sur-Yvette – **Philippe Soudant**, Université de Brest, LEMAR IUEM UBO, Plouzané

Projet de recherche (2019 – 2022) – Financement : 174 k€ – Contact : [guillaume.brotions@univ-lemans.fr](mailto:guillaume.brotions@univ-lemans.fr)

**Mots-clés** : matière plastique, milieu aquatique, eau, écosystème, interaction, protéine, microparticule, nanoparticule, chaîne alimentaire, mécanisme action, biofilm, bio-physique/chimie, microorganisme, migration, intégration, translocation, cellule, adsorption, microscopie optique

Parmi les contaminants, micro- et nanoplastiques (MNP) sont des polluants émergents spécifiques souvent issus de la fragmentation des déchets plastiques dans l'environnement. Ils peuvent se stabiliser dans l'eau ou, au contraire, s'agréger en fonction des molécules qui couvriront leurs surfaces et par la suite crêmer vers la surface ou sédimenter. Ils suscitent un intérêt croissant, notamment car ils sont susceptibles d'être ingérés par un grand nombre d'organismes aquatiques (vertébrés et invertébrés) et s'accumuler dans la chaîne alimentaire animale et humaine. Ce sont les plus petits débris, ceux dont la taille est inférieure à quelques dizaines de microns, qui posent le plus de questions à la recherche. D'une part, ils sont les plus difficiles à détecter et identifier dans les compartiments environnementaux. D'autre part, ils ont une plus grande propension à s'adsorber sur (et/ou traverser) certaines membranes biologiques.

## La couronne de protéines (corona)

Dans un milieu biologique, les particules restent rarement « nues » et sont rapidement recouvertes par des molécules de l'environnement. Ce sont essentiellement des protéines dans le milieu biologique ; on parle alors de couronne de protéines (corona) même si d'autres molécules peuvent aussi interagir avec ces particules. La nouvelle entité formée possède ainsi une nouvelle « identité biologique » qui va influencer sur son devenir<sup>98</sup>, son internalisation dans l'organisme ou non, sa durée de vie (élimination ou stockage). En effet, la « corona » altère drastiquement les caractéristiques de surface, la stabilité et influence aussi fortement les interactions des MNP avec les autres molécules, les membranes biologiques, et les cellules... La formation d'une éco- ou « biocorona »<sup>99</sup> est stimulée elle-même par les protéines et dans certaines conditions, des agrégats de MNP se recouvrent de biofilms et de microorganismes.

## Le projet de recherche : PROMPT

Malgré le grand nombre de travaux engagés récemment, on constate le manque d'études des mécanismes moléculaires et des interactions impliquant les MNP et leur couronne protéique. Notre démarche est donc orientée vers une compréhension mécanistique de ces interactions, suivant une approche biophysique et biochimique. Parmi les verrous scientifiques liés à ces interactions entre les MNP et leur environnement, nous devons :

- i) Mieux comprendre les mécanismes moléculaires d'interaction des protéines avec les MNP ;
- ii) Déterminer les protéines adsorbées ou pas ;

<sup>98</sup> Par exemple, sa densité, sa diffusion et son aggrégation.

<sup>99</sup> Enrobage conditionnant (ou film primaire) de quelques nm à quelques dizaines de nm d'épaisseur de substances organiques et inorganiques de l'environnement (ou biocorona dans les fluides biologiques).

- iii) Caractériser des déterminants physico-chimiques, structuraux ou fonctionnels spécifiques.

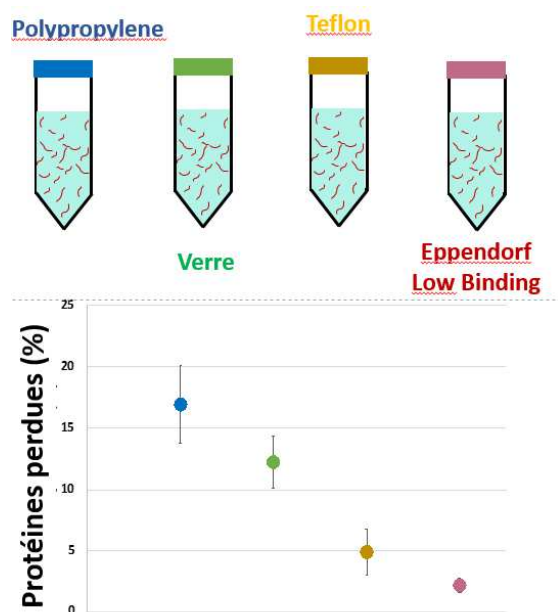


Illustration 15 : Impact de la nature du tube contenant dont l'effet devient négligeable heureusement lorsqu'on atteint des concentrations suffisantes en protéines et des interactions dominées par la formation de la *corona* protéique sur les MNP (Auteur : Marion Schwartz, CEA/Univ. Le Mans)

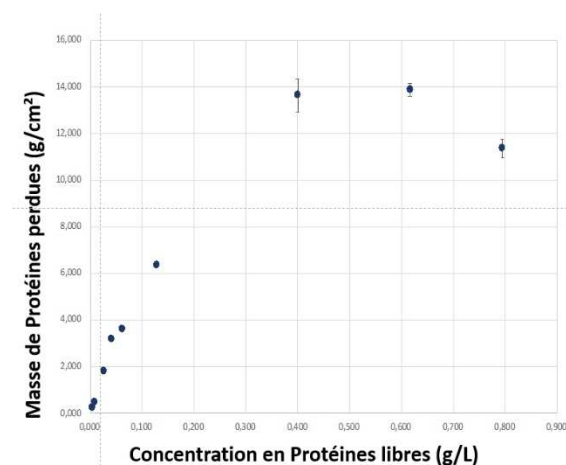


Illustration 16 : Isotherme d'adsorption des protéines sur des MNP de polyéthylène (5µm de diamètre) (Auteur : Marion Schwartz, CEA/Univ. Le Mans)

## Méthodologie

L'approche adoptée pour ce projet de recherche s'articule autour de trois tâches principales :

1. La petite taille des MNP pose la question de leur capacité à franchir les différents mécanismes de défense et à migrer dans l'organisme. Pour aborder cette question, des MNP de référence sont constitués à partir des principaux contaminants plastiques (ex. polyéthylène, polystyrène), d'une taille comprise entre 0,05 et 5 µm et stabilisés par une « corona » protéique de nature biochimique maîtrisée (contrôlée). Des milieux protéiques et biomimétiques de complexité différente permettront de mieux comprendre l'évolution des « coronas » sur diverses particules. Suivre l'interaction des protéines avec les microplastiques (MNP) est une tâche délicate, surtout quand celles-ci interagissent aussi avec les contenants. Nous développons un couplage de techniques analytiques dont la protéomique capable de discerner quelles sont les protéines au contact des microplastiques et celles restées en solution (Illust. 15). La séquestration des protéines par les MNP peut être forte suivant leur nature et un plateau est atteint quand la corona protéique est formée, changeant ainsi la nature de la particule (Illust. 16).
2. Pour atteindre une meilleure compréhension des mécanismes de migration et d'interaction des MNP en présence de protéines, membranes, cellules et constituants du milieu marin. Nous développons une microscopie optique résolue dans le temps permettant de suivre une particule unique ainsi que son approche et interaction avec une membrane biologique stabilisée sur un bio-capteur et dans des milieux réalistes (Illust. 17-18).

3. Cette approche s'étend à leur interaction avec des organismes vivants modèles (ex. phytoplancton, larve d'huître) suivant les conditions des tests écotoxicologiques.

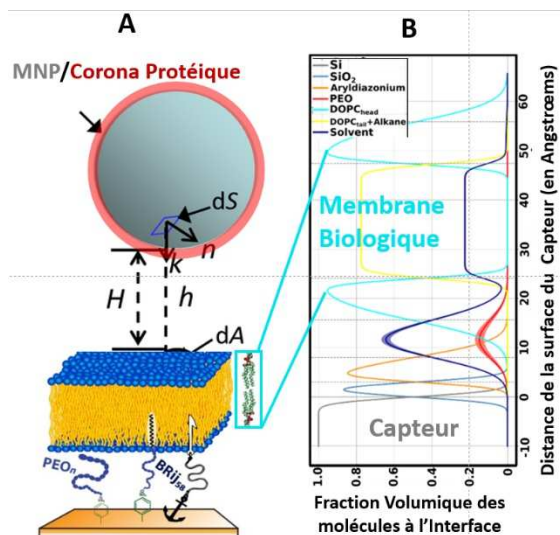


Illustration 17 : A) Interaction d'un MNP modèle avec une membrane biomimétique ; B) Distribution des molécules ancrées sur le biocapteur (analyse par réflectivité des Neutrons) (Auteur : Guillaume Brotons, Univ. Le Mans)

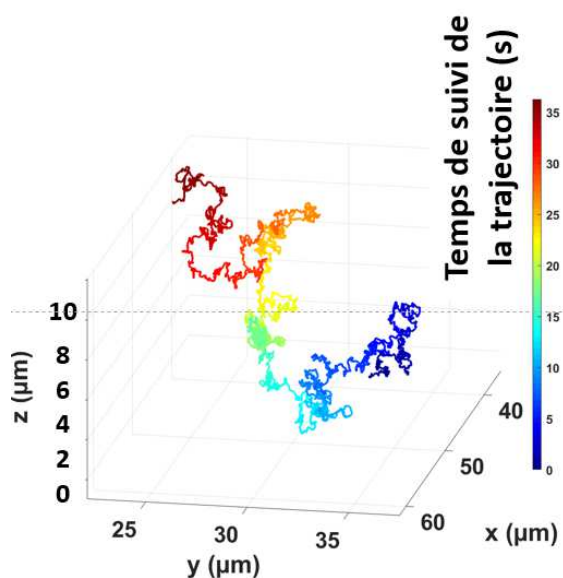


Illustration 18 : Trajectoire 3D mesurée par microscopie résolue en temps d'un MNP à l'approche de la membrane modèle (Auteur : Thomas Perrault, Univ. Le Mans)

#### Publications :

Squillace, Ophelie; Perrault, Thomas; Gorczynska, Magdalena; Caruana, Andrew; Bajorek, Anna and Brotons, Guillaume. *Design of tethered bilayer lipid membranes, using wet chemistry via aryldiazonium sulfonic acid spontaneous grafting on silicon and chrome*, COLLOIDS AND SURFACES B-BIOINTERFACES, 2021, Volume: 197, Article Number: 111427.

DOI: [10.1016/j.colsurfb.2020.111427](https://doi.org/10.1016/j.colsurfb.2020.111427)

## Micro- et nanoplastiques dans les eaux continentales

Évaluation écotoxicologique des micro- nanoplastiques des eaux continentales

**Laury GAUTHIER**, Laboratoire Ecologie Fonctionnelle et Environnement, UMR CNRS 5245, Castanet Tolosan

Équipes partenaires : **Loïc Ten-Hage**, Université Toulouse 3, Paul Sabatier Laboratoire Ecologie Fonctionnelle et Environnement - **Alexandra Ter Halle**, Université Paul Sabatier, Laboratoire IMRCP, CNRS UMR 5623, Toulouse - **Julien Gigault**, CNRS/Université de Rennes 1, Laboratoire Géosciences, Rennes UMR 6118, Rennes

Projet de recherche (de 2017 à 2020) –  
Financement : 194.230 € – Contact :  
[laury.gauthier@univ-tlse3.fr](mailto:laury.gauthier@univ-tlse3.fr)

**Mots-clés** : matière plastique, déchet plastique, polystyrène, polyéthylène, polymère, microparticule, nanoparticule, écotoxicologie, pollution, eau douce, rivière, écosystème, interaction, microorganisme, réactivité, biodisponibilité

Depuis le XX<sup>e</sup> siècle, les matières plastiques n'ont cessé d'être utilisées. Elles sont fabriquées à partir de la pétrochimie *via* un grand nombre de techniques de transformation (ex. polychlorure de vinyle, polyéthylène, polystyrène, polypropylène, nylon) et chaque année, huit millions de tonnes finissent dans les océans. Ainsi, pour une grande majorité d'entre elles, elles transitent par les rivières, les côtes littorales, etc. Une fois dans l'environnement, sous l'effet conjugué des rayons solaires et de l'abrasion mécanique (ex. courant, vague, vent), ces matières plastiques flottantes se fragmentent progressivement en particules de plus en plus petites, voire invisibles.

Dans le milieu marin, les micro-plastiques (et leurs contaminants associés) ont été retrouvés, par exemple, dans les systèmes digestifs et respiratoires d'organismes tels que des huîtres,

des poissons, des baleines... La fragmentation des débris de plastiques en particules de tailles micrométriques puis nanométriques pose donc question et soulève des inquiétudes tant au niveau toxicologique (santé humaine) et écotoxicologique (santé environnementale). Si la pollution de plastique dans le milieu marin est maintenant reconnue par les scientifiques comme une menace pour l'équilibre de ses écosystèmes, il est alors surprenant de constater que la pollution de plastiques dans les eaux continentales a été encore très peu étudiée.



**Illustration 19 : Filet manta en action lors d'un prélèvement en Garonne (Auteur : Florence Mouchet)**

### La composition du plastique

Le plastique est un mélange réalisé à partir d'une matière de base (un polymère) et différents additifs qui peuvent représenter jusqu'à 50% en masse du plastique. Cette composition même est importante :

- La nature même du polymère (constitutif du plastique), sa porosité, sa densité, ses fonctions de surface sont des paramètres capables d'influencer la réactivité environnementale et biologique du matériau ;
- Les différentes substances entrant dans la formulation du plastique (ex. agents structurants, catalyseurs, durcissants, pigments, solvants) sont toutes capables d'influencer les interactions avec les milieux et le vivant.

## Le projet de recherche : EMPEC

L'objectif principal du projet EMPEC était de fournir des données sur la nature et les flux des débris de plastiques dans les milieux aquatiques puis d'évaluer l'impact toxicologique de ces particules (de tailles micrométriques et nanométriques) chez des organismes aquatiques au niveau des eaux continentales, encore peu étudiées.

### Méthodologie

La logique qui a prévalu pour la réalisation de ces travaux a été celle d'une évaluation de particules de micro- et nanoplastiques de plus en plus complexes dans la mesure où une évolution existe entre la nature même des plastiques dits « vierges » et des plastiques qualifiés d'« environnementaux »<sup>100</sup>. Pour ce faire, nous avons choisi de travailler à des concentrations faibles, voisines des concentrations moyennes estimées dans les eaux continentales<sup>101</sup>.

L'évaluation écotoxicologique a été réalisée à partir de fractions de micro- et nanoplastiques en dispersion aqueuse et préalablement stabilisées à part égale avec de la matière organique naturelle de rivière<sup>102</sup>. Différentes catégories d'effets biologiques ont ainsi été mesurées chez les organismes exposés :

- Chez les microalgues, principalement la croissance, l'activité photosynthétique et la respiration ;
- Chez les larves benthiques du chironome<sup>103</sup>, la mortalité, la croissance, le développement et les effets tératogènes (acquisition de malformations) ;

- Sur les larves de xénope<sup>104</sup>, la mortalité, la croissance et les effets génotoxiques.

Nous avons ainsi pu documenter les données écotoxicologiques concernant principalement deux familles de polymères : les polystyrènes et les polyéthylènes. À noter que pour ces derniers, qui représentent environ 50% des matériaux plastiques retrouvés en rivière et la majorité des plastiques « marins », il y a peu d'études paradoxalement les concernant<sup>105</sup>.

### Résultats

L'ensemble de nos résultats tend à montrer qu'il paraît quasiment impossible de prédire les effets biologiques potentiels des différentes fractions de plastiques qui constituent dans la nature, un continuum de tailles allant des macro objets aux nanoparticules – chaque classe de taille pouvant porter des effets biologiques différents.

- **Effets des micro- et nano-polystyrènes** : les effets se sont avérés relativement modérés à faibles (difficilement interprétables) chez les microorganismes photosynthétiques (ex. algues vertes, diatomées). Seuls les hétéro-agrégats PS-HA<sup>106</sup> ont provoqué une diminution de la croissance et du développement chez la larve de chironome aux plus fortes concentrations testées<sup>107</sup>. Chez l'amphibien, seule la forme PS-HA s'est aussi montrée plus toxique que les autres : notamment, cette fois-ci, vis-à-vis du matériel génétique puisque seule cette forme hétéro-agrégée a permis d'observer des effets génotoxiques, mais aussi de la perturbation endocrinienne<sup>108</sup>.

<sup>100</sup> Débris collectés dans l'environnement (c'est-à-dire après leur séjour en milieu naturel) : ce qui est un aspect très original du projet.

<sup>101</sup> De l'ordre de 0,1-100 µg/L.

<sup>102</sup> Acide humique de la rivière Suwanee fourni par la Société Internationale des Substances Humiques (IHSS).

<sup>103</sup> Insecte diptère ressemblant à un moustique.

<sup>104</sup> *Xenopus laevis*, xénope ou crapaud d'Afrique du Sud.

<sup>105</sup> Peut-être dû à la difficulté de les utiliser pour réaliser des essais biologiques.

<sup>106</sup> Polystyrène dans sa forme hétéro agrégée.

<sup>107</sup> Dans ce cas, il semble que l'effet biologique observé soit davantage influencé par la biodisponibilité de la particule que par sa taille puisque, à taille identique, la fraction nanométrique PS-50 ne montre aucun effet toxique.

<sup>108</sup> Il semble que l'on puisse attribuer les effets observés au niveau important de la dispersion et donc de la

- **Effets des micro- et nano-polyéthylènes** : il n'a pas été possible, au cours de nos travaux, de produire des dispersions utilisables pour les essais biologiques à partir du polyéthylène « vierge ». À partir d'expositions de larve de xénope aux plastiques dits « environnementaux »<sup>109</sup>, une fraction nanométrique de polyéthylène a montré des effets génotoxiques clairs ainsi que des effets négatifs sur le développement des larves. Toutefois, ne connaissant pas précisément l'historique du matériau collecté, on peut supposer que son séjour dans l'environnement a été suffisamment long pour le modifier chimiquement<sup>110</sup>, lui donnant ainsi la capacité d'interférer fortement avec les processus biologiques au sein de l'organisme. On ne peut donc exclure l'intervention d'autres processus chimiques et biologiques pour expliquer les effets toxiques observés en présence de polyéthylène vieilli ou irradié (UV A). Contrairement à ce que nous avons observé pour le polystyrène, il semble difficile de ne pas envisager l'influence d'un effet « taille ». En effet, on remarquera qu'aucun effet n'a pu être observé en présence de la fraction nanométrique de grande taille (90 µm) de polyéthylène alors que les fractions micro- et nanométriques ne diffèrent entre elles que par la taille sans modification chimique d'une classe à l'autre.

Nos résultats montrent ainsi la complexité des phénomènes à considérer. Pendant le séjour dans l'environnement, les transformations chimiques peuvent moduler radicalement la réactivité des objets en modifiant leurs interactions au cours du temps. La nature

---

biodisponibilité de la nanoparticule qui aurait été capable, sous cette forme, de manifester ses effets mutagènes jusqu'au niveau des organes hématopoïétiques (qui produisent des cellules sanguines) au sein de l'organisme.

<sup>109</sup> Veillis « naturellement » au cours de leur séjour dans le milieu.

<sup>110</sup> Par oxydation en surface et/ou en profondeur.

même du milieu récepteur du déchet plastique va largement influencer sa réactivité biologique en modulant, par exemple, sa biodisponibilité. La présence d'autres contaminants<sup>111</sup> dans le milieu peut aussi conduire, par d'autres voies, à la contamination des écosystèmes. Tout au plus, pouvons-nous espérer participer à la prise de conscience de la tâche qui incombe à nos sociétés afin de réduire efficacement les rejets de plastiques dans l'environnement, même si on ne sait pas toujours prédire efficacement ni les flux réels ni les effets potentiels de ces déchets sur les écosystèmes.

#### Publications :

ROWENCZYK L., LEFLAIVE J., CLERGEAUD F., MINET A., FERRIOL J., GAUTHIER L., GIGAULT J., MOUCHET F., ORY D., PINELLI E., ALBIGNAC M., ROUX C., MINGOTAUD AF., SILVESTRE J., TEN HAGE L., TER HALLE A. (2021). Heteroaggregates of polystyrene nanospheres and organic matter: preparation, characterization and evaluation of their toxicity to algae in environmentally relevant conditions. *Nanomaterials*, 11, 482.

DOI: [10.3390/nano11020482](https://doi.org/10.3390/nano11020482) 

---

<sup>111</sup> Capables de s'adsorber, puis de se désorber après ingestion dans un organisme vivant.



## Le transfert des micro- et nanoplastiques dans les chaînes alimentaires

Toxicité des micro- et nanoparticules de plastiques vis-à-vis d'organismes aquatiques le long du continuum eau douce-eau marine : évaluation du transfert trophique

**Amélie CHATEL**, Université Catholique de l'Ouest, MMS, Angers

Équipes partenaires : **Magalie Baudrimont**, Université Bordeaux 1, UMR CNRS 5805 EPOC, Arcachon - **Julien Gigault**, CNRS/Université de Rennes 1, Laboratoire Géosciences, UMR 6118, Rennes

Projet de recherche (en cours depuis 2018 – Durée : 36 mois) – Financement : 200 K€ – Contact : [amelie.chatel@uco.fr](mailto:amelie.chatel@uco.fr)

**Mots-clés** : matière plastique, microparticule, nanoparticule, toxicité, écotoxicologie, exposition risque environnement, milieu aquatique, eau douce, eau mer, eau marine, estuaire, eau usée, écosystème aquatique, photodégradation, thermodégradation, biodégradation, bioaccumulation, algue, mollusque aquatique, anguille, chaîne alimentaire

Les fleuves et cours d'eau représentent la principale voie de transport du plastique vers les océans : notamment, à travers les rejets d'eaux usées contenant de nombreux types de particules de plastique issues majoritairement de produits cosmétiques et de fibres de lavage de vêtements synthétiques. Ces eaux continentales peuvent également transporter des macro-déchets de plastique (ou macroplastiques) dispersés pendant leur transport vers les déchetteries, de manière accidentelle (ex. matériaux de construction, emballages) voire intentionnelle.

Les débris plastiques, que nous voyons dans notre environnement quotidien, vont subir des dégradations très fortes (photochimiques,

thermiques et biologiques) et ainsi se fragmenter en micro- et nanoplastiques<sup>112</sup>.

### Le transfert dans les chaînes alimentaires

Même si des études récentes montrent des effets toxiques des microplastiques sur des espèces marines (ex. crustacés copépodes, moules, gobies tachetés, bars ou loups de mer), leurs mécanismes de toxicité et de transfert dans les chaînes alimentaires restent encore à élucider. Ceci est encore plus vrai pour les nanoplastiques pour lesquels les études sont rares.



Illustration 20 : Manger une huître (Crédits : iStockPhoto)

Néanmoins, il a été montré que des bivalves tel que la moule (*Mytilus edulis*) et l'huître (*Crassostrea virginica*) étaient capables d'ingérer des nanosphères de polystyrène de 10 nm, surtout sous forme agrégée. Toutefois, ces études utilisent en laboratoire des modèles de polystyrènes<sup>113</sup> qui n'ont aucune similarité avec les nanoparticules qui proviennent des déchets de plastiques. De plus, en terme de représentativité, les concentrations d'exposition utilisées dans ces différentes études<sup>114</sup> dépassent largement celles susceptibles d'être trouvées dans l'environnement<sup>115</sup>.

<sup>112</sup> Taille des microplastiques comprise entre 1 et 5 mm. Taille des nanoplastiques comprise entre 1 et 1.000 nm.

<sup>113</sup> Synthétisés par émulsion.

<sup>114</sup> De l'ordre de 1 à quelques centaines de mg/L.

<sup>115</sup> Entre 0,4 et 34 ng/L dans les eaux de surface aux États-Unis et en Europe.

## Le projet de recherche : TROPHIPLAST

Afin de comprendre les effets des micro- et nanoplastiques sur les organismes aquatiques, il apparaît nécessaire de réaliser des études plus réalistes d'un point de vue environnemental. C'est pourquoi ce projet vise à étudier :

- Les caractéristiques physico-chimiques des micro- et nanoplastiques, leur toxicité et celle des contaminants associés ;
- Leurs conditions de dispersion dans l'eau selon le gradient de salinité ;
- Leurs effets chez des organismes aquatiques appartenant aux différents maillons de la chaîne trophique en caractérisant précisément l'exposome.

L'objectif principal de TROPHIPLAST s'appuie sur une multitude de verrous scientifiques, analytiques et technologiques, qui démontre toute son originalité en évaluant les impacts écotoxicologiques sur différents organismes aquatiques (ex. algues phytoplanctoniques<sup>116</sup>, mollusques bivalves<sup>117</sup>, anguille européenne) qui vivent dans le continuum eau douce/eau marine rencontré typiquement en estuaire.

### Méthodologie

L'impact des micro- et nanoplastiques sur les espèces aquatiques sera caractérisé en utilisant une approche multi-marqueurs allant des effets aux niveaux individuel et sub-individuel (ex. moléculaire, biochimique, microscopique). Le choix des concentrations d'exposition se fera par rapport à celles observées dans l'environnement<sup>118</sup>. Enfin, des macroplastiques seront échantillonnés sur le terrain (estuaire de

la Gironde) et permettront de produire des modèles de micro- et nanoplastiques représentatifs de deux présents dans l'environnement.

Depuis plusieurs années, les études se concentrent sur la contamination plastique à l'échelle millimétrique en raison des limites et des difficultés pour caractériser les nanoparticules dans l'environnement. Le point fort de notre projet s'appuiera sur la stratégie analytique utilisée : la nanométrie environnementale.

Ainsi, les caractéristiques de l'exposome seront évaluées selon trois types de continuum : eau douce/eau marine (paramètres physico-chimiques du système estuarien), la chaîne trophique (paramètres biologiques) et la fragmentation des micro- et nanoplastiques (paramètres physico-chimiques)

### Résultats préliminaires

Les premiers résultats suite aux expositions des bivalves marins et d'eau douce aux plastiques (nanoplastiques de référence ; nano (NP) et micro (MP) plastiques environnementaux) montrent une induction significative des dommages à l'ADN dans les branchies du bivalve marin (*Scrobicularia plana*). En revanche, aucune différence n'a été observée entre les types de plastiques testés (NPs de référence vs NPs et MPs environnementaux). Il est également intéressant de noter que les dommages à l'ADN sont significativement plus élevés pour la plus forte concentration (100 µg/L) par rapport à la plus faible concentration (0.008 µg/L) pour les MPs et NPs environnementaux. L'analyse d'autres paramètres biologiques est en cours afin de comprendre les mécanismes cellulaires et moléculaires intervenant dans la toxicité des plastiques vis-à-vis des différents organismes le long de la chaîne trophique (algues – bivalves – anguilles). Compte tenu de l'absorption des MP et des NP par les

<sup>116</sup> Algues phytoplanctoniques et diatomées du microphyto-benthos (*Scenedesmus subspicatus* et *Thalassiosira weissflogii*).

<sup>117</sup> Mollusques bivalves endobenthiques (*Corbicula fluminea* et *Scrobicularia plana*).

<sup>118</sup> De 0,008 µg/L pour une concentration en microplastiques observée en pleine mer à 100 µg/L pour une zone « hot spot » caractéristique des gyres océaniques.

anguilles, une estimation des quantités ingérées par l'Homme pourra être calculée.

**Publications :**

Latchère O., Audroin T., Hétier J., Métais I., Châtel A. The need to investigate continuums of plastic particle diversity, brackish environments and trophic transfer to assess the risk of micro and nanoplastics on aquatic organisms. *Environmental Pollution*, 2021 <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2021.116449>

## Les microplastiques et le risque lié à la consommation de moules contaminées

Analyse des résidus plastiques issus de la digestion humaine simulée de moules contaminées par des microplastiques, à l'aide du couplage entre la microscopie électronique à balayage et la spectroscopie Raman

**Marie-Hélène ROPERS**, Unité de recherche BIA (INRAE), Nantes

Équipes partenaires : **Bernard Humbert**, IMN, Nantes – **Nicolas Feltin**, LNE, Trappes – **Guillaume Duflos**, Anses, Boulogne-sur-Mer

Projet de recherche (en cours depuis 2020 – Durée : 2 ans) – Financement : 199.990 € – Contact : [marie-helene.ropers@inrae.fr](mailto:marie-helene.ropers@inrae.fr)

**Mots-clés :** matière plastique, polystyrène, polyéthylène, polypropylène, microparticule, nanoparticule, produit chimique, adsorption, contamination, eau marine, résidu, moule, chaîne alimentaire, alimentation, digestion, appareil digestif, phénomènes physicochimiques, caractérisation, chimométrie, chimie physique, métrologie, microscopie électronique balayage, microspectrométrie Raman, analyse spectrale Raman, *in vitro*

Les microparticules de plastiques<sup>119</sup> sont devenues des substances omniprésentes dans l'environnement marin, notamment dans les zones côtières. Les fruits de mer, coquillages et mollusques n'échappent pas à cette contamination et constituent une voie d'exposition aux microplastiques pour l'Homme. Le long des côtes françaises (ex. Atlantique, Manche, Mer du Nord), tous les sites étudiés ont révélé une contamination des moules aux microplastiques : principalement, polyéthylène (PE), polystyrène (PS) et polypropylène (PP). Que deviennent ces microplastiques après la consommation de moules contaminées ?

<sup>119</sup> Taille inférieure à 5 mm.

## L'exposition des moules aux microplastiques

Dans la littérature scientifique, les microplastiques (MP) sont décrits selon leur forme (ex. bille, fibre, fil, fragment), leur couleur, leur substance polymère et leur taille. Chez les moules, les MP se retrouvent essentiellement sous la forme de fibre et/ou fragment, de couleur noire, grise, bleue, verte, rouge et jaune. Mais, seules les MP d'une taille supérieure à 5 microns ( $\mu\text{m}$ ) sont analysées et leur fragmentation n'est pas connue en fonction de leur nature chimique.



Illustration 21 : Moules dans un filet rouge (Crédits : iStockPhoto)

Actuellement, l'un des verrous est de ne pas pouvoir déterminer la taille de chaque famille de plastiques pour comprendre l'adsorption de polluants chimiques à leur surface. Un autre verrou est la limitation des observations microscopiques aux particules de taille supérieure à 5 microns alors que le vieillissement des plastiques en milieu marin conduit à de petites particules de taille submicrométrique, voire nanométrique, qui sont avalées par des organismes marins filtreurs tels que les moules. De même, le devenir des MP après digestion est peu documenté.

### Le projet de recherche : Moustic

Le projet Moustic a pour objectif de déterminer la distribution en tailles (du micro au nanomètre) des microplastiques identifiés chez les moules, en fonction de la nature

chimique des plastiques (ex. polyéthylène, polystyrène, polypropylène) auxquels elles sont majoritairement exposées le long des côtes françaises. Ce projet permettra de relier la nature des plastiques à leurs comportements dans les milieux digestifs, de cibler les contaminants chimiques en fonction de la surface développée par les différentes familles de plastiques et de jeter les bases pour caractériser le risque lié à la consommation de moules contaminées par des microplastiques.

### Méthodologie

Le caractère novateur du projet est de proposer une démarche analytique de caractérisation des MP dans les eaux d'élevages de moules, de l'échelle micrométrique à nanométrique et qui soit robuste et adaptable (transposable) à d'autres environnements. La répartition des tailles par famille de plastiques sera notamment obtenue par :

- Le couplage entre la spectroscopie Raman et la microscopie optique (déjà existant) ;
- Le couplage entre la spectroscopie Raman et la microscopie électronique à balayage (à adapter aux microplastiques).

Puis, le devenir de chaque famille de MP sera évaluée après cuisson et digestion humaine simulée *in vitro* selon un protocole harmonisé reprenant les trois phases (orale, gastrique et intestinale). Ces travaux permettront d'obtenir des données sur l'état des MP après consommation de moules contaminées, jusqu'ici inconnu.

## Effets potentiels de micro- et nanoplastiques sur des cellules humaines

Effet des microplastiques/nanoplastiques sur l'activité des transporteurs membranaires de xénobiotiques

**Olivier FARDEL**, IRSET, INSERM U1085, Université de Rennes 1

Étude de faisabilité (en cours depuis 2021 – Durée : 2 ans) – Financement : 50 k€ - Contact : [olivier.fardel@univ-rennes1.fr](mailto:olivier.fardel@univ-rennes1.fr)

**Mots-clés** : matière plastique, plastifiant, polystyrène, nanoparticule, exposition multiple, mélange, polluant, contaminant, xénobiotique, bisphénol, bisphénol A, pesticide, composé organochloré, hydrocarbures aromatiques polycycliques, endosulfan, chlordécone, pollution, écosystème, toxicité, interaction, intestin, foie, barrière, internalisation, cellule, transport membranaire, stress oxydant, inflammation, étude faisabilité

L'Homme est largement exposé aux particules de micro- et nanoplastiques, par voie aérienne mais aussi par voie orale *via* l'alimentation. Or, les effets de ces composés sont méconnus ; ils pourraient exercer, par exemple, une toxicité vis-à-vis des tissus/cellules/organes humains en initiant un stress oxydatif, une inflammation chronique et/ou un dysfonctionnement (une perturbation) du système immunitaire. Leur toxicité pourrait aussi être reliée aux différents composés chimiques qu'ils peuvent relarguer (ex. agents plastifiants, retardateurs de flamme) et entraîner d'éventuels effets « cocktail » dus aux mélanges plastiques/polluants.

### Les transporteurs membranaires

L'exposition de l'Homme aux micro- et nanoplastiques concerne, en premier lieu, les barrières naturelles du corps ou barrières biologiques comme les barrières intestinale et pulmonaire. Dans ce contexte, les transporteurs membranaires qui jouent un rôle important

dans le passage de la membrane cellulaire<sup>120</sup>, pourraient constituer une cible importante car :

- Ils sont au contact direct des micro- et nanoplastiques, qui pourraient y exercer leur toxicité sans nécessairement pénétrer dans la cellule ;
- Ils sont déjà connus pour interagir avec certains polluants chimiques adsorbés et/ou relargués par les micro- et nanoplastiques (ex. bisphénols, hydrocarbures aromatiques polycycliques) ;
- Le passage de leurs substrats physiologiques (ex. hormones, métabolites, nutriments) pourrait être perturbé et constituer alors un mécanisme de toxicité.

De plus, l'exposition à des particules de nanoplastiques est capable de déclencher, par exemple, une internalisation de ces particules, associée à une réaction de type inflammatoire dans ces cellules épithéliales humaines pulmonaires. Par ailleurs, des études récentes menées avec des cellules intestinales<sup>121</sup> ont montré une persistance de la présence de nanoplastiques dans le compartiment endolysosomal<sup>122</sup>, en l'absence de toxicité majeure même si les propriétés des barrières et le fonctionnement des transporteurs membranaires n'ont pas été étudiés.

### Le projet de recherche : TRANSPLAST

Les objectifs du projet TRANSPLAST sont de :

1. Caractériser les effets de particules de micro- et nanoplastiques sur les transporteurs membranaires humains de type ABC<sup>123</sup> et SLC<sup>124</sup> reconnus comme

<sup>120</sup> Ex. absorption ou relargage de molécules à l'extérieur des cellules.

<sup>121</sup> Caco-2.

<sup>122</sup> Un endolysosome est un organite cytoplasmique qui résulte de la fusion entre un lysosome et une vésicule d'endocytose.

<sup>123</sup> Pompes d'efflux présentes au niveau de la membrane plasmique, en particulier dans les cellules du foie, des reins et de l'intestin chez l'Homme.

- étant impactés par les contaminants chimiques ;
2. Préciser les conséquences en terme de fonctionnement des barrières hépatique et intestinale<sup>125</sup> ;
  3. Définir les interactions potentielles des transporteurs membranaires avec des polluants chimiques associés aux micro- et nanoplastiques (ex. bisphénol A, pesticides organochlorés, retardateurs de flamme)

### **Méthodologie**

Le projet comprend trois phases de recherche :

1. Étude des effets de micro- et nanosphères de polystyrène<sup>126</sup> sur l'activité de pompes ABC<sup>127</sup> et de transporteurs SLC d'anions<sup>128</sup> et de cations<sup>129</sup> organiques à l'aide de lignées et de clones cellulaires surexprimant les transporteurs d'intérêt ;
2. Analyse des effets d'un traitement par des micro- et nanosphères de polystyrène sur les fonctions de barrière et l'expression de transporteurs membranaires dans des cellules humaines intestinales (Caco-2) et hépatiques (HepaRG) ;
3. Caractérisation des effets d'une co-exposition à des micro/nanoplastiques et à des contaminants chimiques (ex. bisphénol A, tetrabromobisphénol A, BDE-47, endosulfan et chlordécone) sur l'activité des transporteurs membranaires.

---

<sup>124</sup> Ces transporteurs participent essentiellement à l'absorption cellulaire des substances xénobiotiques ou « uptake ».

<sup>125</sup> Approche expérimentale combinant des modèles d'étude spécifiques de transporteurs et des modèles plus intégratifs représentatifs de barrière (cellules Caco-2 et HepaRG).

<sup>126</sup> Microsphères (diamètre = 5 µm) et nanosphères (diamètre = 100 nm) de polystyrène fournies par Polysciences (Polybead® Microspheres).

<sup>127</sup> P-glycoprotéine/ABCB1, « *multidrug resistance-associated proteins* » (MRPs/ABCCs) et « *breast cancer resistance protein* » (BCRP/ABCG2).

<sup>128</sup> OATPs et OATs.

<sup>129</sup> OCTs et MATEs.

## Abréviations et acronymes utilisés

**ADN**, Acide désoxyribonucléique

**AhR**, Récepteur d'aryl hydrocarbone

**Anses**, Agence nationale de sécurité sanitaire de l'alimentation, de l'environnement et du travail

**ARN**, Acide ribonucléique

**ATP**, Adénosine triphosphate (nucléotide)

**CE**, Commission européenne

**CIRC**, Centre International de Recherche sur le Cancer

**CMR**, Cancérogène, mutagène et reprotoxique

**CNT**, De l'anglais "Carbon Nanotubes"

**EMX**, Enzyme du métabolisme des xénobiotiques

**ERS**, Évaluation du risque sanitaire

**FXR**, De l'anglais "farnesoid X receptor" (récepteur nucléaire)

**GTP**, Guanosine triphosphate (nucléotide)

**HGPRT**, Hypoxanthine-guanine phosphoribosyl-transférase (enzyme)

**HPLC**, De l'anglais "High performance liquid chromatography" (chromatographie en phase liquide à haute performance)

**IHSS**, De l'anglais "International Humic Substances Society" (Société Internationale des Substances Humiques)

**IRSN**, Institut de Radioprotection et de Sûreté Nucléaire

**ISO**, Organisation internationale de normalisation

**LXR**, De l'anglais "liver X receptor" (récepteur nucléaire)

**MMS**, Méthanesulfonate de méthyle

**MS**, Spectrométrie de masse

**MS-MS**, Spectrométrie de masse en mode tandem

**MWCNT**, De l'anglais "Multi-Walled Carbon Nanotubes"

**NMM**, Nanomatériau manufacturé

**NOAA**, Nano-objets et leurs agrégats et agglomérats de taille supérieure à 100 nm

**NP**, Nanoparticule

**NRBC**, Nucléaire, radiologique, biologique, chimique (risque)

**OCDE**, Organisation de coopération et de développement économiques

**OMS**, Organisation mondiale de la Santé

**OQAI**, Observatoire de la qualité de l'air intérieur

**PE**, Polyéthylène

**PNR EST**, Programme national de recherche en Environnement-Santé-Travail

**POP**, Polluant organique persistant

**PP**, Polypropylène

**PS**, Polystyrène

**PVC**, De l'anglais "polyvinyl chloride" (polychlorure de vinyle)

**SLC**, De l'anglais "Solute carrier"

**SWCNT**, De l'anglais "Single-Walled Carbon Nanotubes"

**TTP**, Thymidine triphosphate (nucléotide)

**UE**, Union européenne

**UTP**, Uridine triphosphate (nucléotide)

**UV**, Ultraviolet

**VLEP**, Valeur limite d'exposition professionnelle

**XRF**, De l'anglais "X-ray fluorescence" (microscopie de fluorescence des rayons X)

## Table des illustrations

Illustration 1 : Production mondiale de nanomatériaux (2014).....	6
Illustration 2 : Cheval de Troie (Auteur : Nathalie Ruau).....	7
Illustration 3 : Nanomatériaux dans les produits destinés à l'alimentation (2020).....	9
Illustration 4 : Valeurs toxicologiques de référence, le dioxyde de titane sous forme nanoparticulaire (2019) .....	9
Illustration 5 : L'accumulation des nanoparticules d'argent dans le foie et leur transformation dans les hépatocytes .....	12
Illustration 6 : Exposition à la fumée de cigarette (Crédits : Getty Images).....	14
Illustration 7 : Évaluation des risques liés aux nanomatériaux (Anses, Édition scientifique, avril 2014) .....	16
Illustration 8 : Résumé des effets observés de la silice nanoparticulaire amorphe sur les cellules immunitaires étudiées.....	18
Illustration 9 : Plateau et schéma des cellules de diffusion de Franz (Hanson Research™) – Crédits : IRSN .....	20
Illustration 10 : Femelle Daphnia magna portant un ephippium (Auteur : Dieter Ebert, Bâle – CC-BY-4.0).....	25
Illustration 11 : Image d'un lysosome observé en microscopie électronique en transmission (Crédits : Alice Balfourier et Christine Péchoux-Longin).....	28
Illustration 12 : Déchets plastiques à la surface de l'eau (Crédits : iStockPhoto) .....	30
Illustration 13 : Pollution plastique et tortue de mer (Crédits : iStockPhoto) .....	30
Illustration 14 : Bouteille collectée sur la plage et organismes marins (Crédits : iStockPhoto).....	31
Illustration 15 : Impact de la nature du tube contenant dont l'effet devient négligeable heureusement lorsqu'on atteint des concentrations suffisantes en protéines et des interactions dominées par la formation de la corona protéique sur les MNP (Auteur : Marion Schvartz, CEA/Univ. Le Mans) .....	34
Illustration 16 : Isotherme d'adsorption des protéines sur des MNP de polyéthylène (Auteur : Marion Schvartz, CEA/Univ. Le Mans) .....	34
Illustration 17 : A) Interaction d'un MNP modèle avec une membrane biomimétique ; B) Distribution des molécules ancrées sur le biocapteur (Auteur : Guillaume Brotons, Univ. Le Mans) .....	35
Illustration 18 : Trajectoire 3D mesurée par microscopie résolue en temps d'un MNP à l'approche de la membrane modèle (Auteur : Thomas Perrault, Univ. Le Mans) .....	35
Illustration 19 : Filet manta en action lors d'un prélèvement en Garonne (Auteur : Florence Mouchet) .....	36
Illustration 20 : Manger une huître (Crédits : iStockPhoto) .....	39
Illustration 21 : Moules dans un filet rouge (Crédits : iStockPhoto) .....	42



## Mentions légales

Ce numéro des *Cahiers de la Recherche* a été réalisé par l'Agence nationale de sécurité sanitaire de l'alimentation, de l'environnement et du travail (Anses) dans le cadre de l'animation et de la valorisation du Programme National de Recherche en Environnement-Santé-Travail (PNR EST).

### Ont contribué à ce numéro

**Philippe Barthélémy**, Univ. Bordeaux Inserm U1212 – **Céline Bouvier-Capely**, IRSN, Fontenay-aux-Roses – **Guillaume Brotons**, Univ. Le Mans – **Amélie Chatel**, UCO, Angers - **Xavier Coumoul**, Univ. Paris, Inserm UMR-S 1124 – **Aurélien Deniaud**, CEA Grenoble – **Olivier Fardel**, Univ. Rennes 1 - **Laury Gauthier**, UMR CNRS 5245, Castanet Tolosan - **Florence Gazeau**, Univ. Paris – **Thierry Rabilloud**, CEA Grenoble – **Jean-Luc Ravannat**, CEA, Grenoble - **Marie-Hélène Ropers**, INRAE, Nantes

### Remerciements

Nous remercions l'ensemble des contributeurs, et plus particulièrement Alice Balfourier, Paulina Cervantes, Maryse Chabalière, Fabrice Coutureau-Vicaire, Aurélie Desbrée, Isabelle Domain, Christine Druésne, Laëticia Dubois, Guillaume Duflos, Aude Guérin, Sophie Guitton, Delphine Lascar, Ivan Le Gallo, Sophie Le Quellec, Olivier Merckel, Lucie Moreels, Anne-Laure Moriaux, Florence Mouchet, Frieda Ngoué, Aurélie Niaudet, Aurélie Pajon, Christine Péchoux-Longin, Thomas Perrault, Sabine Puiseux, Matthieu Schuler, Marion Schvartz, Anne Tilloy

### Directeur de la publication :

Roger GENET (Directeur général, Anses)

### Conception et réalisation :

Nathalie RUAUX (Direction financement Recherche et Veille, Anses)

### Suivez l'actualité de l'Agence sur les réseaux sociaux



@Anses\_fr



<https://www.linkedin.com/company/french-agency-for-food-environmental-and-occupational-health-&-safety-anses->

## Archives ouvertes

**HAL-Anses** est la plateforme d'auto-archivage permettant le dépôt et la consultation de l'ensemble de la production scientifique des chercheurs et des évaluateurs scientifiques de l'Anses (hors avis).

Découvrez la collection des *Cahiers de la Recherche* sur la plateforme d'archive ouverte HAL-Anses !

The screenshot displays the HAL-Anses website interface. At the top, there is a navigation bar with 'CCSD', 'HAL', 'Epublis.com', 'Sciencesconf.org', and 'Support'. Below this is the 'LES CAHIERS DE LA RECHERCHE' logo, which includes the text 'Santé, Environnement, Travail'. The main content area features a search bar, a 'RECHERCHE' section with a search input field, and a 'MOTS CLÉS' section listing various scientific terms such as 'Ultraviolet', 'Particule atmosphérique', 'Biocide', 'Cohorte', 'Phalate', 'Cervicau', 'Gène', 'Pesticide', 'Exposition', 'Radon', 'Cancer', 'Pollution', 'atmosphérique', 'Persistance', 'Moustique', 'Cellule', 'Agriculture', 'Deltaméthrine', 'Femelle', 'Céréale', 'Obésité', 'Campylobacter', 'Produit chimique', 'Contamination', 'Automobile', 'Chikungunya', 'Environnement', 'Allergie', 'Alimentation', 'Médicament', 'antibiotique', 'Combustion', 'Microorganisme', 'Résistance', 'Évaporation', 'Champ électromagnétique', 'Toxicologie', 'Toxicité', 'Facteur risque', 'Plastique', 'Modélisation', 'Immunité', 'Modélisation', 'Insecticide', 'Dioxyle de stane', 'Côte d'Ivoire', 'Exposition multiple', 'Antibiorésistance', 'Barrière', 'Alvéolaire', 'Absorption', 'Sol', 'Translocation', 'Leucémie', 'Sulfite', 'Asthme', 'Station épuratoire', 'Silice', 'Nanotechnologies', 'Poumon', 'Dioxine', 'Tumeur', 'Polluant', 'Stress', 'Bronchite', 'Mycotoxine', 'Lymphome', 'Eau usée', 'Ammoniac', 'Lombalgie', 'Inhalation', 'Bruit', 'Benzobenzopyrène', 'obésité', 'Exposition professionnelle', 'Rhinite', 'ASMR', 'Alimentaire', 'Stress oxydant', 'Dose faible', 'Polychlorobiphényles', 'Trafic', 'Formaldéhyde', 'Adénocarcinome', 'Nanoparticule', 'Escherichia coli', 'Enquête cas témoin', 'Trouble musculo-squelettique', 'Agrégation', 'Bactérie', 'Carcinome', 'PCB', 'Radiofréquence', 'Perturbateur endocrinien', 'Disémination', 'Prévention', 'Biomarqueur', 'Génotoxicité', 'Enfant', 'Appareil respiratoire'. At the bottom of the screenshot, there is a URL: [https://hal-anses.archives-ouvertes.fr/CAHIERS\\_DE\\_LA\\_RECHERCHE](https://hal-anses.archives-ouvertes.fr/CAHIERS_DE_LA_RECHERCHE).

L'archive ouverte pluridisciplinaire HAL est destinée au dépôt et à la diffusion d'articles scientifiques de niveau recherche, publiés ou non, émanant des établissements d'enseignement et de recherche français ou étrangers, des laboratoires publics ou privés.







**anses**

AGENCE NATIONALE DE SÉCURITÉ SANITAIRE  
de l'alimentation, de l'environnement et du travail  
14, rue Pierre et Marie Curie - 94701 Maisons-Alfort Cedex  
[www.anses.fr](http://www.anses.fr) @Anses\_fr