

PARTICULES ULTRA-FINES ET SANTÉ AU TRAVAIL

1 - CARACTÉRISTIQUES ET EFFETS POTENTIELS SUR LA SANTÉ

Depuis peu, les particules ultra-fines (nanoparticules) sont considérées comme des facteurs de risque potentiel pour la santé au travail et correspondent à de forts enjeux de prévention. S'il est trop tôt, à bien des égards, pour donner des réponses définitives, il est nécessaire de faire un point sur la connaissance et les perspectives notamment en termes d'études et de recherches.

Dans le cadre d'une étude d'instruction conduite à l'INRS sur le thème des particules ultra-fines, un travail d'analyse bibliographique a été réalisé sur un ensemble d'environ 180 articles scientifiques, rapports ou livres dont près de 80 % ont été publiés après l'année 2000. Ce travail est présenté en deux parties, l'ensemble offrant les éléments de connaissances communs indispensables pour une première vue d'ensemble sur la question de l'exposition professionnelle liée à l'inhalation.

Dans cette première partie, quelques caractéristiques des particules ultra-fines sont présentées en termes de nature physique et comportement dans l'air. Ensuite, les questions de dépôt dans les voies respiratoires, d'épuration et de transport des particules ultra-fines dans le corps humain sont abordées. Enfin, les effets potentiels sur la santé en termes d'épidémiologie et de toxicologie sont exposés. Le deuxième article traite de la question des sources en environnement de travail et de la caractérisation de l'exposition professionnelle.

INTRODUCTION

On sait depuis longtemps que l'inhalation de polluants dispersés dans l'air sous forme gazeuse ou particulaire (aérosols) et contenant des substances nocives ou toxiques peut être à l'origine de diverses pathologies chez l'Homme ayant des conséquences plus ou moins graves. Malgré l'amélioration sensible des conditions de travail et notamment de la qualité de l'air dans les locaux industriels, la santé au travail reste plus

que jamais une préoccupation constante de nombreux acteurs de la vie professionnelle.

Jusqu'alors, la gamme de tailles des particules composant les aérosols présents dans l'air des lieux de travail pris en considération dans la problématique santé au travail pour la voie d'exposition inhalatoire concernait principalement le domaine micronique (diamètre aérodynamique compris entre environ 1 µm et environ 100 µm). Ceci provient du fait que les aérosols émis présentent généra-

- Particule ultra-fine
- Nanoparticule
- Aérosol ultra-fin
- Caractéristique
- Toxicité
- Épidémiologie

► *Olivier WITSCHGER,*
Jean-François FABRIÈS
INRS, Département Métrologie des polluants

ULTRAFINE PARTICLES AND OCCUPATIONAL HEALTH 1 – CHARACTERISTICS AND POTENTIAL HEALTH EFFECTS

Ultrafine particles (nanoparticles) have been considered potential occupational health risk factors only recently and they represent serious prevention issues. Whilst it is too early, in many respects, to provide final solutions, both knowledge and prospects in this field require review, especially in research and study terms.

Within the scope of an investigative study conducted at INRS on subject of ultrafine particles, a bibliographical analysis was performed on a collection of approximately 180 scientific papers, reports or books, of which nearly 80% were published after the year 2000. This work is presented in two parts, which together offer essential elements of common knowledge providing an initial approach to the issue of inhalation-related occupational exposure.

In this first part, a number of ultrafine particle characteristics are introduced in terms of their physical nature and airborne behaviour. Subsequently, issues involving respiratory tract deposition, clearance and ultrafine particle transfer to the human body are addressed. Finally, potential health effects are described in epidemiological and toxicological terms. The second paper deals with the issue of work environmental sources and characterisation of occupational exposure.

- Ultrafine particle
- Nanoparticle
- Ultrafine aerosol
- Characteristic
- Toxicity
- Epidemiology

lement une distribution en taille relativement dispersée avec une fraction massique micronique prépondérante. D'autre part, les relations dose-effet ont été essentiellement établies par rapport à une dose « massique » ou « volumique ». Il en résulte un ensemble de dispositions de surveillance et de prévention professionnelle relatif au risque chimique basé sur une approche de l'exposition des personnes aux aérosols exprimée en concentration dans l'air en masse (mg/m^3) ou en volume (ppm), excepté pour les fibres [1,2]. Par ailleurs, les dispositifs et les méthodes de prélèvement d'aérosols traditionnellement employés sont également fondés sur cette même approche « massique » de la mesure de la concentration et de la distribution granulométrique [3]. Enfin, le constat est identique pour la santé publique, que ce soit au niveau des dispositions relatives à l'exposition aux particules présentes dans l'air ambiant [4] ou bien de la métrologie [5].

Une problématique récente est apparue concernant les effets sur la santé consécutifs à une exposition aux particules ultra-fines, dont la taille limite supérieure couramment admise est de l'ordre de $0,1 \mu\text{m}$ ou 100 nm .

Dans l'environnement, et principalement en zone urbaine, les particules ultra-fines dispersées dans l'air sont principalement de nature anthropogénique via les procédés de combustion et l'émission des véhicules à moteurs [6, 7, 8]. Il y a une dizaine d'années, l'hypothèse « particule ultra-fine » a été formulée pour la première fois pour expliquer l'association observée entre l'accroissement significatif d'effets respiratoires et cardiovasculaires et des épisodes de pollution particulaire élevée [9]. Depuis lors, quelques récents travaux épidémiologiques suggèrent, chez les personnes sensibles, une association entre la concentration en particules ultra-fines dans l'air ambiant et des effets sur la santé, mais sans pour autant conclure de façon certaine [10]. Par ailleurs, il n'existe pas d'étude épidémiologique publiée qui se soit attachée spécifiquement à la question des particules ultra-fines en environnement de travail.

C'est dans le domaine de la toxicologie des particules ultra-fines que l'effort de recherche au niveau international a été le plus notable ces dernières années comme on peut le constater par le nombre important et toujours croissant

d'études publiées. La connaissance a fait un grand pas sur les modes d'actions, et les résultats actuels rendent maintenant plausible l'hypothèse « particule ultra-fine » [11, 12]. En particulier, il semble qu'actuellement les paramètres de « surface », de « taille » et de « morphologie » des particules ultra-fines constituent des paramètres clés. De plus, de nouvelles cibles ont été identifiées comme le système cardiovasculaire, le système nerveux central et le système immunitaire [13, 14].

Finalement, compte tenu des informations tirées des études épidémiologiques et toxicologiques, il est légitime de se poser la question du risque pour la santé au travail lié aux particules ultra-fines.

S'il est important d'appréhender la problématique des particules ultra-fines (nanoparticules) par le biais d'études et recherches coordonnées et interdisciplinaires pour acquérir de la connaissance, il est tout aussi primordial d'en diffuser autant que faire se peut l'état actuel. En ce sens, le présent travail répond en partie, car il ne prétend pas être exhaustif, à la nécessité de faire un point [15].

Sur ce sujet nouveau, complexe et pluridisciplinaire, nous avons fait le choix de rassembler dans deux articles les éléments de connaissances communs indispensables pour une première vue d'ensemble sur la question de l'exposition professionnelle liée à l'inhalation. Il s'agit également de dégager les différents thèmes sur lesquels des études et des recherches doivent être conduites.

Dans cette première partie, quelques caractéristiques des particules ultra-fines (nanoparticules) en termes de nature physique et comportement dans l'air sont présentées. Ensuite, les questions de dépôt dans les voies respiratoires, d'épuration et de transport des particules ultra-fines dans le corps humain sont abordés. Enfin, les effets potentiels sur la santé en termes d'épidémiologie et de toxicologie sont exposés. Un deuxième article [74] traite de la question des sources en environnement de travail et de la caractérisation de l'exposition professionnelle.

Les aspects d'exposition cutanée ou d'ingestion ne sont pas traités mais devraient faire l'objet d'une attention particulière à l'avenir car des situations d'exposition sont probables et les questionnements réels [16]. Il en est de même du risque d'explosion, notamment des poudres à structure nanométrique [17].

CONSIDÉRATIONS SUR QUELQUES CARACTÉRISTIQUES DES PARTICULES ULTRA-FINES

NATURE PHYSIQUE

Lorsqu'une particule est suffisamment grosse, on peut considérer sa surface ou son volume comme un continuum. La particule peut être alors examinée comme une entité dont les propriétés physiques et chimiques découlent de celles du matériau qui la constitue (effet de volume). Mais lorsque la taille diminue et atteint la dimension nanométrique, le nombre relativement faible de molécules (ou d'atomes) contenu dans une particule (10^3 à 10^7 environ) peut conduire à des propriétés nouvelles qui correspondent au domaine de transition entre la phase moléculaire et la phase macroscopique du matériau [18]. Lorsque les effets de surface deviennent non négligeables vis-à-vis de ceux de volume, les raisonnements classiques ne sont plus suffisants pour rendre compte de ces nouvelles propriétés observées et de nouveaux concepts issus de la mécanique quantique doivent être alors utilisés [19].

La *Figure 1* montre l'évolution de deux facteurs – le rapport surface/volume et la proportion de molécules présentes en surface – en fonction du diamètre de la particule. Le modèle utilisé pour les besoins des calculs considère une particule sphérique constituée de molécules suivant une structure dense [20]. Suivant ce modèle pour un diamètre de particule de $0,02 \mu\text{m}$ (ou 20 nm), environ 15 % des molécules sont situées en surface et le rapport surface/volume est de l'ordre de $3 \cdot 10^8 \text{ m}^2/\text{m}^3$ (équivalent à une surface spécifique de $300 \text{ m}^2/\text{g}$ pour une masse volumique de $1 \text{ g}/\text{cm}^3$). Sur le graphe (cf. *Figure 1*), on constate que les deux facteurs considérés augmentent de façon significative lorsque le diamètre de la particule diminue, en particulier en dessous de 100 nm . Lorsque le diamètre décroît de 500 nm à 5 nm , la proportion de molécules à la surface passe de moins de 1 % à près de 50 %. Il est intéressant de noter que, même s'il s'agit là d'un modèle simple, les valeurs calculées sont proches de celles obtenues pour le palladium notamment [21].

FIGURE 1

Évolution du rapport surface/volume (en bleu) et de la fraction de molécules présentes à la surface de la particule (en rouge) en fonction du diamètre. Hypothèse de calcul : particule sphérique et structure dense composée de molécules de 5 Å.

Surface to volume ratio (blue line) and ratio of surface molecules to interior molecules as a function of particle diameter.

Results are for a spherical and dense particle composed of 5 Å molecules.

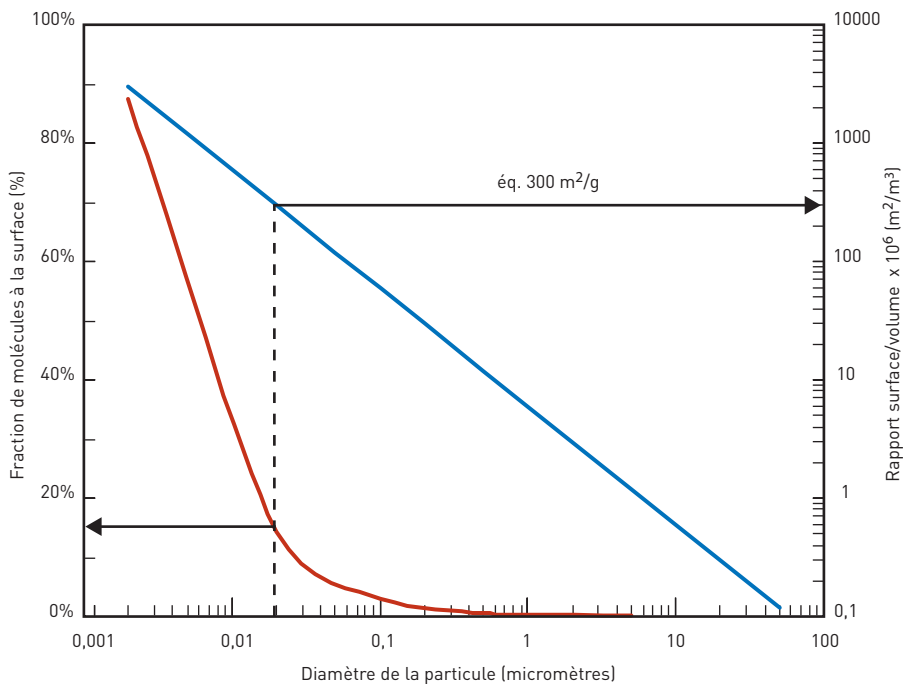


TABLEAU I

Coefficient de diffusion (D) et déplacement net (en une seconde) sous l'action de la diffusion thermique (x_{DT}) et de la gravité (x_G) pour des particules sphériques de diamètre d_p et de masse volumique 1 g/cm^3 .

Calculs effectués dans l'air aux conditions standards.

Diffusion coefficient (D) and net displacement (in 1 second) due to thermal diffusion (x_{DT}) and gravity (x_G) for spherical particles with a diameter d_p and a density of 1 g/cm^3 .

Calculations performed in air under standard conditions.

d_p (μm)	D (m^2/s)	x_{DT} (mm)	x_G (mm)	x_{DT}/x_G (-)
0,01	$5,3 \cdot 10^{-8}$	$3,3 \cdot 10^{-1}$	$6,8 \cdot 10^{-5}$	4800
0,1	$6,9 \cdot 10^{-10}$	$3,7 \cdot 10^{-2}$	$8,7 \cdot 10^{-4}$	43
1	$2,8 \cdot 10^{-11}$	$7,4 \cdot 10^{-3}$	$3,5 \cdot 10^{-2}$	0,21
10	$2,4 \cdot 10^{-12}$	$2,2 \cdot 10^{-3}$	3,1	$7,2 \cdot 10^{-4}$

L'évolution significative de la proportion de molécules en surface a un effet prononcé sur les structures internes et l'activité de surface des très petites particules. L'énergie de surface croît avec la surface spécifique qui est inversement proportionnelle à la taille de la particule. Cette énergie de surface très importante a notamment pour conséquence de rendre la particule instable du point de vue thermodynamique. Le

potentiel chimique varie également avec la courbure de la surface. Il est d'autant plus important que le rayon de la surface convexe diminue [22].

Ces différents points illustrent bien pourquoi les changements de taille au niveau nanométrique peuvent conduire à des changements importants des propriétés physiques et chimiques de matériaux à l'échelle macroscopique. On ne peut donc pas considérer les propriétés

des particules de taille nanométrique équivalentes à celles du matériau constitutif, et il est même probable que ces propriétés évoluent en fonction de la taille pour se rapprocher de celles des molécules [23, 24].

En conséquence, la façon dont ces particules interagissent physiquement, chimiquement ou biologiquement avec leur environnement peut changer de manière appréciable. On donne souvent l'exemple de l'or, matériau réputé pour sa stabilité, qui devient réactif lorsqu'il atteint des dimensions nanométriques [25]. Cette caractéristique est depuis longtemps utilisée en catalyse hétérogène. Elle est également à l'origine de l'engouement pour des nanomatériaux comme les oxydes métalliques [26].

La surface très importante des particules ultra-fines constitue donc une interface de choix pour des réactions catalytiques d'agents localisés avec des cibles biologiques (protéines, cellules...) [13]. En conséquence, dans le domaine toxicologique où les conséquences des particules ultra-fines ne font l'objet que depuis peu d'une attention particulière, la taille des particules, la surface spécifique, mais aussi la composition chimique et la réactivité de surface sont des facteurs qui doivent être pris en considération pour expliquer les effets observés.

DÉPLACEMENT ET TRANSFERT DANS L'AIR ET DÉPÔT SUR LES SURFACES

La diffusion (encore dénommée diffusion thermique ou brownienne) est le mécanisme primaire de transport à l'échelle microscopique des particules qui composent un aérosol ultra-fin. De la même manière que pour un gaz on définit, pour une particule, un coefficient de diffusion D qui combine la dimension de la particule à des propriétés caractéristiques du gaz porteur. Pour les grosses particules dont la correction de glissement est négligeable, le coefficient de diffusion est inversement proportionnel au diamètre de la particule. Pour des dimensions plus petites où la correction de glissement est importante, le coefficient de diffusion devient inversement proportionnel au carré du diamètre de la particule. Afin d'illustrer l'importance relative du phénomène de diffusion par rapport au phénomène de sédimentation, le *Tableau I* montre, pour plusieurs diamètres de particules, le coefficient de diffusion et les déplacements calculés pour une seconde. Ces résultats montrent,

qu'en deçà de 0,1 µm, le mouvement des particules est gouverné par la diffusion qui influence fortement le dépôt des aérosols ultra-fins dans les voies respiratoires. Cette diffusivité élevée des particules est également prise en compte par la métrologie des aérosols ultra-fins.

Mais, si la diffusion est responsable du transport sur des distances de l'ordre de quelques fractions de millimètres, c'est le mécanisme dénommé « diffusion turbulente » qui régit le transfert à l'échelle macroscopique. Compte tenu des vitesses d'air rencontrées habituellement dans les locaux de travail, les particules ultra-fines peuvent être considérées comme n'ayant aucune inertie. Cette diffusion turbulente naturelle ou forcée peut être liée aux écarts de température, à la ventilation, au déplacement des personnes... De manière analogue à la diffusion brownienne, on peut caractériser la diffusion turbulente par un coefficient de diffusion équivalent. Une valeur généralement admise est celle estimée par J.H. Vincent [27] pour un local de travail « typique » soit $10^{-3} \text{ m}^2/\text{s}$. Il résulte de tout ceci que la persistance dans l'air d'un aérosol composé de particules ultra-fines peut être relativement longue.

Lorsqu'elles se trouvent à proximité d'une surface, les particules ultra-fines se déposent principalement du fait de la diffusion brownienne et de la thermophorèse.

C'est le cas en présence d'un gradient thermique dans l'air au voisinage d'une particule ; ce mécanisme contribue au déplacement des particules vers la zone froide (vers une paroi, par exemple). Plus le gradient thermique est élevé, plus la force thermique induite sur la particule est forte. A titre d'illustration, le *Tableau II* compare le dépôt cumulé sur une surface par les deux mécanismes classiques de sédimentation et de diffusion à celui obtenu par thermophorèse pour un gradient thermique de 100 K/cm. Dans ces conditions, les résultats indiquent que c'est la thermophorèse qui régit en grande partie le dépôt sur les parois.

La thermophorèse est un mécanisme bien connu de l'industrie de la microélectronique puisqu'il permet de minimiser le dépôt sur les surfaces en maintenant le produit à une température plus élevée que l'air ou les surfaces environnantes. Il est également pris en compte lors de mesures d'aérosols dans des gaz chauds afin de minimiser les dépôts sur

TABLEAU II

Dépôt cumulé de particules sur une surface plane horizontale d'un aérosol durant une minute par sédimentation, diffusion et thermophorèse. Particules sphériques de masse volumique 1 g/cm³ et concentration de l'aérosol égale à 1 p/cm³. Gradient thermique égal à 100 K/cm.

Cumulative deposition onto a horizontal surface from aerosol during 1 minute by sedimentation, diffusion and thermophoresis. Spherical particles with a density of 1 g/cm³ and aerosol concentration equal to 1 p/cm³. Temperature gradient of 100 K/cm.

dp (µm)	Dépôt cumulé (p/m ²)		
	Sédimentation	Diffusion	Thermophorèse
0,001	0,005	2 4,0 10 ³	17,0 10 ³
0,01	4	2,0 10 ³	12,4 10 ³
0,1	52	229	11,4 10 ³
1	2,1 10 ³	46	8,4 10 ³
10	1,8 10 ⁵	14	4,6 10 ³

les parois des lignes de prélèvement. Dans le domaine des particules ultra-fines, il peut s'avérer également intéressant car, pour une composition donnée de particules, la vitesse de dépôt varie peu en deçà d'environ 100 nm. Le mécanisme de collecte ne modifie pas la structure des particules collectées du fait des faibles vitesses de dépôt mises en jeu [28].

MISE EN SUSPENSION

La mise en suspension dans l'air à partir des matériaux pulvérulents sous forme de poudres est un des scénarios connus à l'origine de la présence de particules dans l'atmosphère de travail. Les modes de mise en suspension sont divers : chute de poudres, léchage par l'air d'un dépôt ou d'un tas, effet de vibrations d'une surface contaminée... Ils se retrouvent de façon générique dans de nombreux domaines industriels tels que l'électronique, l'agroalimentaire, la pharmacie, le nucléaire...[29].

Les particules en contact les unes avec les autres adhèrent généralement entre elles pour former des agglomérats. Elles restent collées sous l'action de forces cohésives dont les plus fortes sont généralement les forces de Van der Waals. Ces forces agissant à courte distance empêchent l'agglomérat formé de se rompre. La mise en suspension s'effectue alors sous cette forme et non sous la forme de particules individuelles. Cependant, pour un mode donné, la mise en suspension résulte de la compétition entre forces d'adhérence et forces

aérodynamiques ou de cisaillement agissant sur l'ensemble des particules. De nombreux paramètres entrent également en jeu : taille, forme, état de charge des particules, énergie transmise... Ils viennent compliquer à souhait la physique, rendant la mise en suspension d'aérosols à partir de poudres très complexe, difficile à prédire d'un point de vue théorique [30].

Au niveau européen, le concept de « propension des poudres en vrac à former un aérosol » (en anglais « dustiness of bulk materials ») a été développé et appliqué aux matériaux pulvérulents. Cette propension est un index qui est évalué à partir de mesures sur l'aérosol généré par l'agitation de la poudre. La procédure d'essai fait l'objet d'une norme européenne traduite très récemment en français [31]. Elle décrit deux méthodes de mise en suspension : agitation dans un tambour en rotation et chute libre dans un conduit vertical. Les concentrations des aérosols générés sont caractérisées suivant les fractions inhalable, thoracique et alvéolaire. Dans le cadre d'une étude européenne, douze matériaux de référence ont été évalués suivant respectivement les deux méthodes [32]. Les matériaux ont été choisis pour représenter diverses combinaisons de distributions granulométriques, de forces de cohésion et de forces électrostatiques.

Toutefois, il n'existe pas d'information publiée sur l'utilisation de cette méthode référencée ou d'étude plus fondamentale sur des poudres nanostructurées. Il est donc nécessaire de réaliser des études dans ce sens. Leurs

résultats seraient très utiles pour le contrôle des émissions et des expositions lors de la manipulation de poudres nano-structurées dans les laboratoires de recherche et développement ou dans certaines industries.

DYNAMIQUE D'ÉVOLUTION DANS L'AIR

Dans certaines conditions, il existe un mécanisme physique inter-particulaire dominant l'évolution d'un aérosol composé de particules ultra-fines : la coagulation. Du fait de leur mouvement relatif, les particules peuvent entrer en collision entre elles puis rester groupées sous l'effet des forces d'adhérence pour former des particules plus grosses. Le résultat net de ce mécanisme est une décroissance continue de la concentration en nombre de particules couplée à une augmentation de la taille moyenne des particules formant l'aérosol. Originellement décrite pour des particules liquides, le terme de coagulation s'applique également aux particules solides, les particules résultantes formées étant des agglomérats ou agrégats. Lorsque la coagulation est le résultat du mouvement relatif brownien, on parle de coagulation thermique. Par opposition, pour des particules plus grosses où le mouvement relatif des particules entre elles est influencé par la sédimentation, on parle de coagulation cinématique. La *Figure 2* montre l'évolution au cours du temps t de la distribution granulométrique d'un aérosol polydispersé mono-modal caractérisé à l'origine par un diamètre médian en nombre (DMN₀) égal à 0,05 µm (ou 50 nm), un écart type géométrique (ETG₀) égal à 2. La concentration numérique initiale (CN₀) à la source de l'aérosol est de 10⁸ p/cm³. Les calculs ont été effectués à partir du modèle de Park et coll. [33]. Les caractéristiques de l'aérosol évoluent rapidement, notamment la concentration et la granulométrie. Les résultats caractéristiques reportés dans le *Tableau III* montrent qu'au bout de quelques dizaines de secondes la concentration numérique CN ne représente plus que quelques % de la concentration de l'aérosol à l'origine. De plus, l'aérosol final est composé de particules plus grosses, dont une grande majorité a un diamètre supérieur à 0,1 µm tout en restant submicronique.

Jusqu'à présent, nous avons considéré la coagulation d'un aérosol mono-modal. Or, dans les conditions réelles d'une atmosphère de travail, il existe souvent un aérosol déjà présent éma-

FIGURE 2

Évolution de la distribution granulométrique d'un aérosol polydispersé mono-modal ultra-fin (particules sphériques) sous l'action de la coagulation thermique. Calcul effectué à différents temps $t = 0, 30, 120$ et 240 secondes.

Caractéristiques de l'aérosol d'origine ($t = 0$) :

DMN₀ = 0,05 µm, ETG₀ = 2, CN₀ = 10⁸ p/cm³.

Variation in particle size distribution for an ultrafine monomodal polydispersed aerosol (spherical particles) under the action of thermal coagulation.

Calculation performed at different times $t = 0, 30, 120$ and 240 seconds.

Initial aerosol characteristics ($t = 0$): DMN₀ = 0.05 µm, ETG₀ = 2, CN₀ = 10⁸ p/cm³.

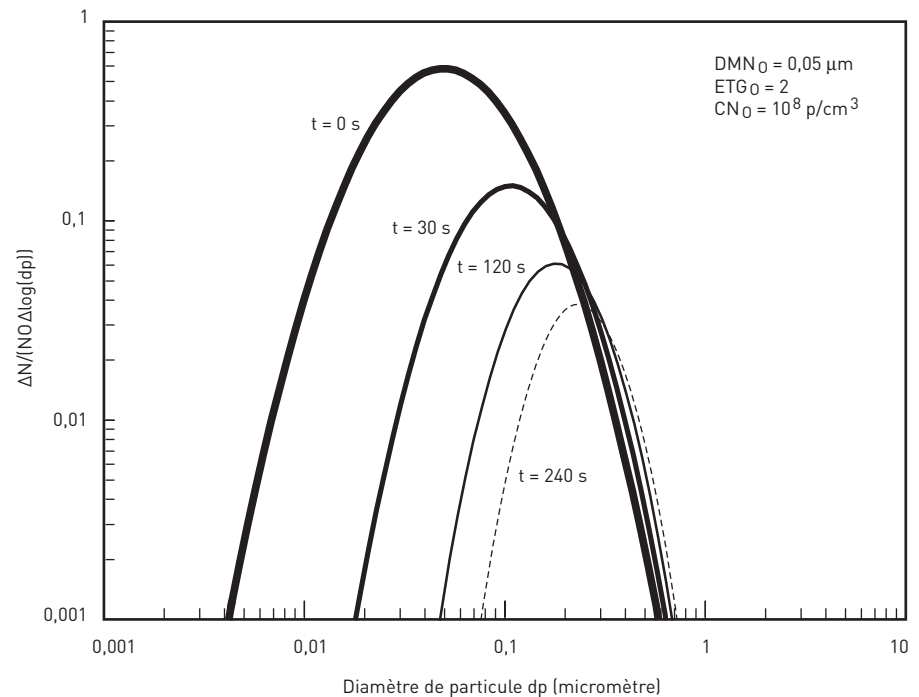


TABLEAU III

Caractéristiques de l'aérosol polydispersé mono-modal en fonction de temps du fait de la coagulation thermique.

Aérosol à l'origine ($t = 0$) : DMN₀ = 0,05 µm, ETG₀ = 2, CN₀ = 10⁸ p/cm³.

Time-related characteristics of monomodal polydispersed aerosol due to thermal coagulation.

Initial aerosol characteristics ($t = 0$): DMN₀ = 0.05 µm, ETG₀ = 2, CN₀ = 10⁸ p/cm³.

t (s)	DMN (µm)	ETG (-)	CN/CN ₀ (%)
30	0,11	1,8	21 %
120	0,18	1,6	7 %
240	0,23	1,5	4 %

nant d'une autre (ou d'autres) source(s) que l'on peut considérer comme « bruit de fond ». Les particules ultra-fines générées par la source d'intérêt peuvent alors se déposer par diffusion sur ces particules de l'aérosol « bruit de fond ». Cet effet sera d'autant plus important que la différence de taille entre les particules ultra-fines et les particules de l'aérosol « bruit de fond » sera impor-

tante et la concentration de ce dernier sera élevée.

Ces résultats théoriques suggèrent que si, à proximité immédiate d'une source, la présence de particules ultra-fines en très grand nombre est évidente, elle l'est peut être moins au-delà d'une certaine distance et donc d'un certain temps de transfert de cet aérosol.

Si, comme le suggèrent certaines études, la concentration en nombre de particules ultra-fines est la métrique la plus pertinente au regard des effets sur la santé, alors la persistance dans l'air des particules entre le point de génération et l'inhalation devient un paramètre critique dans le cadre d'une évaluation de risque. Pour les situations complexes rencontrées sur les lieux de travail (sources multiples générant différentes granulométries à différents niveaux de concentration), les modèles numériques pourraient se révéler de bons outils car les phénomènes physiques (coagulation, sédimentation et diffusion) sont relativement bien connus. Mais il convient toutefois de les développer et de les valider [34]. Ces modèles pourraient également être couplés à ceux décrivant les effets de la ventilation ou les équipements de filtration afin d'étudier l'évolution d'une pollution en particules ultra-fines dans des locaux [35].

Enfin, on voit bien la nécessité, pour caractériser une pollution en particules ultra-fines, de disposer d'outils métrologiques pouvant mesurer la granulométrie, la concentration mais aussi l'évolution dans le temps de ces deux paramètres.

FILTRATION DANS L'AIR DE PARTICULES ULTRA-FINES

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

Il est une idée inexacte encore trop couramment admise qu'un filtre agit vis-à-vis des particules en suspension dans l'air comme un simple tamis, c'est-à-dire que les particules au-dessus d'une certaine taille seraient arrêtées et les plus fines (dont les ultra-fines) passeraient au travers. Si tel est approximativement le cas en filtration liquide, il n'en est pas de même pour la filtration de particules dans l'air.

Lorsqu'un aérosol pénètre dans un filtre du fait d'un écoulement d'air, les

particules qui le composent dévient des trajectoires des filets fluides d'air par différents mécanismes, entrent en contact avec le média (fibres, par exemple) et sont arrêtées. Les mécanismes physiques responsables de la capture des particules sont connus : la sédimentation, l'impaction inertielle, l'interception et la diffusion brownienne. Pour une même configuration de filtration, tous ces mécanismes dépendent de la taille des particules mais suivant des tendances différentes. Les forces électrostatiques peuvent également jouer un rôle important dans certains filtres.

Pour les particules ultra-fines, c'est la diffusion qui prédomine leur comportement et l'efficacité de filtration augmente alors lorsque le diamètre de la particule diminue. L'adhésion des particules ultra-fines collectées est quant à elle pilotée principalement par les forces de Van der Waals. Ceci vaut pour un filtre constitué de fibres ou pour une membrane.

Le couplage des différents mécanismes induit une efficacité globale de collecte du filtre qui est minimale entre environ $0,1 \mu\text{m}$ et $0,5 \mu\text{m}$ suivant le type de filtre et la vitesse de filtration. Les protocoles d'essais en filtration, comme ceux concernant les appareils de protection respiratoire, exploitent cet effet puisqu'ils requièrent de tester les masques pour un diamètre de particule de l'ordre de $0,3 \mu\text{m}$ [36]. Ce diamètre est considéré comme correspondant à celui des particules les moins bien arrêtées par le filtre (ou les plus pénétrantes au travers du filtre). En d'autres termes, toutes les particules plus grosses ou plus petites que ce diamètre sont considérées comme étant collectées par le filtre avec une efficacité supérieure.

Cependant, des interrogations scientifiques subsistent lorsque les particules atteignent des dimensions nanométriques proches de celles de clusters moléculaires gazeux qui eux, en absence d'adsorption, ne sont pas arrêtés par les filtres. Wang et Kasper [37] ont développé une théorie basée sur la notion de « rebond thermique » qui prédit une possible diminution de l'efficacité de collecte en fonction de paramètres liés au filtre, aux particules et au gaz porteur pour des particules nanométriques. Ce n'est que très récemment qu'ont été publiés les résultats expérimentaux préliminaires. Pour la configuration testée, la décroissance de l'efficacité prédite par la théorie a été

observée pour des diamètres inférieurs, de l'ordre de 20 nm [38]. La mise en œuvre de tels essais étant extrêmement délicate en laboratoire, il convient de les confirmer avant de conclure.

Au-delà de l'aspect de filtration, la question des fuites prend toute son importance pour les particules ultra-fines. Puisque celles-ci ont une diffusivité très élevée et une persistance importante dans l'air, on peut avancer l'hypothèse que, dans une situation de pollution relativement homogène au voisinage du visage d'un opérateur, toute fuite devrait conduire à diminuer de manière drastique et rapide la protection de ce dernier de la même manière que pour un gaz. Cependant, sur ce point, aucune recherche spécifique n'a été conduite à ce jour et cela ne reste qu'une hypothèse. Rappelons que, bien souvent, les fuites au niveau du visage sont liées à un mauvais port des masques filtrants ou bien à un masque inadapté [39], mais qu'elles concernent également les équipements de filtration employés dans l'industrie pour le traitement de l'air. Il peut s'agir d'imperfections dans le média ou d'un problème d'étanchéité. Ceci a été montré récemment par Lee et coll. [40] dans le cadre d'une étude expérimentale sur la pénétration des particules ultra-fines au sein de masques respiratoires de type N95¹ et chirurgical.

CONSIDÉRATIONS SUR UNE DÉFINITION DES AÉROSOLS ULTRA-FINS

Les effets sur la santé des particules inhalées dépendent de nombreux facteurs physiques et chimiques. L'un des facteurs physiques les plus importants, avec la concentration dans l'air, est la taille des particules car elle détermine le site de dépôt dans les voies respiratoires et, au delà, la façon dont les particules interagissent avec le système biologique.

¹ N95 désigne une classe de masques respiratoires dont l'efficacité de filtration est supérieure ou égale à 95 % vis-à-vis de particules de $0,3 \mu\text{m}$ (considérées les plus pénétrantes au travers des filtres), selon les normes américaines [75].

Pour désigner les particules ultra-fines la majorité des publications adopte comme gamme de taille celle comprise entre environ 1 nm et environ 100 nm. Dans le domaine des nanotechnologies, on parle également de « nanoparticules élaborées libres » (engineered free nanoparticles) ou plus simplement de « nanoparticules » pour définir les particules élaborées pouvant être éventuellement dispersées dans l'air ; par opposition à celles « fixées » ou « incluses » dans une matrice solide ou liquide de laquelle elles ne peuvent a priori pas s'extraire facilement d'elles-mêmes. Cette limite est arbitraire et ne doit pas apparaître comme une frontière entre ce qui serait dès lors moins nuisible (au-delà de 100 nm) et ce qui le serait davantage (en deçà de 100 nm). D'autant plus que dans certains environnements de travail, des agglomérats ou agrégats de particules ultra-fines solides se forment pour atteindre des dimensions de plus de 100 nm. Un cas bien connu est celui des fumées de soudage.

On désigne généralement par « agglomérat » un groupe de particules dont la cohésion relève des forces de Van der Waals, des forces électrostatiques ou des forces développées par les tensions de surface par opposition à un agrégat où les particules sont plus fortement liées et ne peuvent donc plus facilement se séparer. Pour décrire pleinement les formes non sphériques parfois complexes des agglomérats/agrégats, il est nécessaire de faire appel à la notion de dimension fractale. Ainsi, pour caractériser la morphologie d'une structure agglomérée, on fait souvent appel à un paramètre (D_f) qui lie une longueur caractéristique de cette structure à la taille moyenne des particules primaires qui la compose ainsi qu'à leur nombre. Un agglomérat compact sera caractérisé par un $D_f \rightarrow 3$, tandis qu'un agglomérat plus ouvert (de type « chaîne ») sera caractérisé par un $D_f \leq 2$.

Tout comme les définitions des trois fractions conventionnelles (inhalable, thoracique et alvéolaire) décrites dans la norme NF EN 481 [41] pour l'aérosol ambiant dans les atmosphères de travail, celle du terme « particule ultra-fine » ou « aérosol ultra-fin » devrait être, dans une certaine mesure, liée à la santé. Mais actuellement le niveau de connaissance est encore insuffisant pour qu'un consensus puisse être adopté dans le cadre d'une future norme. Trois questions essentielles se posent :

■ *Quelle est le diamètre le plus approprié pour désigner les particules et leurs interactions avec les voies respiratoires ?*

Le diamètre n'est pas une mesure absolue des caractéristiques de la particule car il dépend de la méthode de mesure. La pénétration et le dépôt au sein des voies respiratoires sont traditionnellement décrits par le diamètre aérodynamique, qui est le diamètre équivalent de la particule sphérique de masse volumique égale à 1 g/cm^3 ayant la même vitesse limite de chute dans l'air que la particule considérée. Représentatif du comportement aérodynamique de la particule, ce diamètre est souvent employé pour caractériser principalement des diamètres supérieurs à environ $0,3 \mu\text{m}$, aux conditions atmosphériques normales de température et de pression. En-dessous de cette valeur, le phénomène dominant le comportement de la particule est la diffusion brownienne. Un diamètre relativement simple à mesurer et qui représente bien le comportement de diffusion des particules est le diamètre de mobilité électrique, qui est le diamètre équivalent de la particule sphérique de même mobilité électrique que la particule considérée. Ce dernier serait alors mieux approprié aux particules ultra-fines. Mais on ne connaît pas encore bien la pertinence de ce diamètre à représenter fidèlement le comportement des particules avec des formes et des densités très variées.

■ *Quelle limite supérieure de taille adopter ?*

La limite de 100 nm n'est pas liée au comportement des particules dans les voies respiratoires. Or, il est concevable d'adopter une définition qui puisse être basée sur la probabilité de dépôt dans les voies respiratoires. La taille limite supérieure pourrait alors correspondre au minimum de dépôt (environ 200 à 300 nm). Mais en deçà de cette limite les propriétés physiques des particules sont modifiées et ne sont pas liées à la seule variation de leur taille. C'est ce qui explique l'engouement pour ces particules dans le domaine des nanomatériaux.

■ *Quelle signification donner aux agglomérats/agrégats de particules ultra-fines ?*

C'est une question importante puisque l'on ne sait pas à l'heure actuelle si, à volume égal de matériau, l'impact biologique de particules ultra-fines individuelles est équivalent ou non à celui d'un agglomérat/agrégat de particules ultra-fines. Par exemple, si la réponse biologique est associée à la surface développée de l'aérosol déposé, alors,

pour un même volume, la réponse d'un agglomérat/agrégat caractérisé par une structure fractale ouverte ($D_f \leq 2$) devrait être similaire à celle d'une dose équivalente de particules individuelles, toute chose égale par ailleurs (notamment le site de dépôt). Par contre, si le diamètre des particules pilote l'interaction biologique, comme cela semble être le cas pour les phénomènes de translocation récemment observés [14, 42], l'impact risque d'être tout à fait différent qu'il s'agisse d'agglomérats ou d'agréments, qui ne se délitent pas une fois déposés.

Dans l'état actuel des connaissances, on peut définir un aérosol ultra-fin comme étant un aérosol composé de particules ultra-fines individuelles ou groupées sous la forme d'agglomérats ou d'agréments et admettre que « particule ultra-fine » et « nanoparticule » sont des termes équivalents (la taille supérieure des particules ultra-fines pouvant être limitée à environ $0,1 \mu\text{m}$).

Il est donc raisonnable de considérer le domaine de taille submicronique (diamètre aérodynamique inférieur à environ $1 \mu\text{m}$) dans son ensemble dès lors qu'il est question d'aérosols ultra-fins.

DÉPÔT DANS LES VOIES RESPIRATOIRES DES PARTICULES ULTRA-FINES

L'inhalation d'un aérosol, c'est à dire sa pénétration dans les voies respiratoires via le nez et/ou la bouche, puis le dépôt des particules dans différentes régions - voies aériennes supérieures, trachée, bronches, bronchioles respiratoires non ciliées, sacs alvéolaires - représentent potentiellement un risque pour la santé. Les particules ultra-fines jouent alors un rôle particulier.

La probabilité de dépôt se réfère à la probabilité moyenne qu'a une particule inhalée d'un diamètre donné de se déposer à un endroit quelconque le long des voies respiratoires. Le dépôt total est la somme des probabilités de dépôt dans les trois différentes régions anatomiques distinctes (ou compartiments respiratoires) que sont généralement :

■ La région extra-thoracique incluant la bouche, les fosses nasales, le larynx et le pharynx ;

- l'arbre trachéo-bronchique : zone où le mécanisme d'épuration par le tapis roulant muco-ciliaire est prépondérant (qui s'étend de la trachée aux bronches) ;
- la région alvéolaire qui comprend les bronchioles terminales et les alvéoles.

La morphologie de l'arbre respiratoire ainsi que les paramètres physiologiques varient de façon importante en fonction des individus et de leurs activités. Plusieurs facteurs peuvent altérer la structure « normale » et le fonctionnement des voies respiratoires comme l'âge, le sexe et des syndromes de type obstructif ou restrictif.

On distingue habituellement cinq mécanismes distincts de dépôt qui sont :

- la sédimentation, liée à la gravité agissant sur les particules ;
- l'impaction inertielle, qui caractérise le comportement des particules massives ;
- l'interception, qui se produit lorsqu'une particule entre en contact avec une surface ;
- la diffusion, liée au mouvement aléatoire des particules très fines ;
- l'attraction électrostatique lorsque les particules sont chargées.

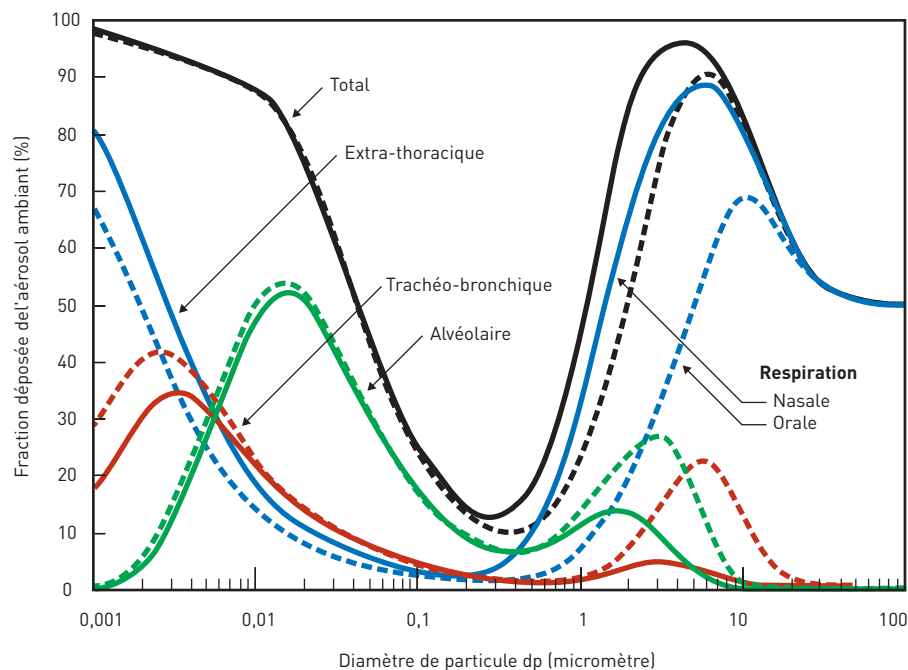
Dans la plupart des études, ce dernier mécanisme est négligé alors qu'il peut influencer de façon importante le dépôt pour les particules fortement chargées. Le caractère hydrophile d'une particule peut également affecter le dépôt en amplifiant l'impaction ou la sédimentation.

La prédiction par le calcul du dépôt s'effectue généralement sur des paramètres moyens, dits « par défaut », et ne représente donc pas fidèlement les doses (en terme de dépôt) d'aérosol dans une population variée. Cependant, des modèles mathématiques permettent de spécifier différents paramètres liés à l'aérosol ou des paramètres physiologiques liés au sujet. Ils constituent de bons outils de calcul prévisionnel. Le modèle publié par la Commission Internationale de Protection Radiobiologique CIPR (1994) permet de calculer la distribution du dépôt des particules inhalées ainsi que les quantités déposées dans les différents compartiments respiratoires cités. Il existe d'autres modèles comme celui de la NCRP [44].

Le modèle de dépôt de la CIPR est l'un des éléments du modèle complet utilisé en radioprotection pour l'évaluation des doses internes d'un grand

FIGURE 3

Prédiction du dépôt total et régional des particules dans les voies respiratoires chez l'Homme en fonction de la taille des particules. La fraction déposée inclut la probabilité d'inhalation. Le sujet est considéré comme respirant majoritairement par la bouche (pointillés) ou le nez (ligne continue) et effectuant un travail « standard » [43]. Les calculs ont été effectués à l'aide du logiciel LUDEP [48].
Predicted total and regional deposition in the human respiratory tract related to particle size. Deposition fraction includes the probability of particles being inhaled. The subject is considered to be either a nose breather (solid lines) or a mouth breather (dotted lines) and performing standard work [43]. Calculation were made using the LUDEP program [48].



nombre de radionucléides. Les résultats obtenus à l'aide de ce modèle mathématique sont généralement en bon accord avec les résultats expérimentaux qui peuvent être obtenus avec les particules ultra-fines [45], même si des données récemment obtenues chez l'Homme montrent une sous-estimation du modèle en condition d'exercice [46]. Un modèle comme celui de la CIPR a toutefois des limites. Il ne permet pas d'apprécier de façon précise le site de dépôt. Il faut alors faire appel à des modèles mathématiques plus complexes mettant en œuvre des outils numériques de mécanique des fluides, de dynamique et de transport des particules. Parmi les récents travaux publiés, on peut citer ceux de Zhang et coll. [47] qui ont déterminé les sites de dépôt des particules ultra-fines au niveau des voies aériennes supérieures (zone buccale) et trachéo-bronchique.

La Figure 3 montre le dépôt total et

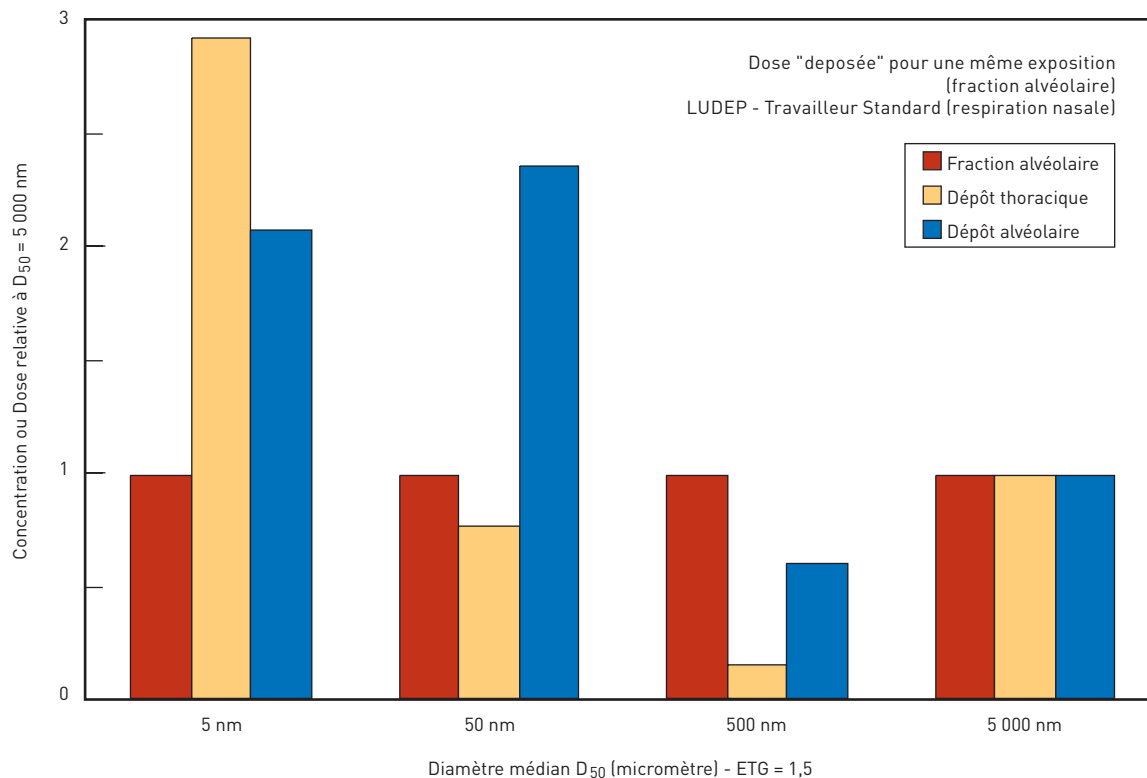
régional en fonction du diamètre des particules - entre 1 nm et 100 µm - calculé suivant le modèle de la CIPR. Ces courbes correspondent à un sujet de « référence » respirant majoritairement par la bouche ou le nez et passant 1/3 de son temps assis et 2/3 de son temps dans une activité « légère » (travail « standard » suivant la CIPR).

Le dépôt est le plus faible autour de 300 nm environ. À cette taille, les particules sont trop grosses pour que le mécanisme de diffusion soit important et trop petites pour que l'impaction et la sédimentation aient un effet. En deçà de ce minimum, le dépôt croît de manière significative car la diffusion devient prédominante. Les particules ultra-fines supérieures à 10 nm se déposent majoritairement dans la région alvéolaire, tandis que celles qui sont inférieures à 10 nm se déposent principalement dans la région extra-thoracique et, dans une

FIGURE 4

Concentration et prédiction du dépôt régional pour une même exposition en terme de fraction alvéolaire. Calcul effectué pour quatre aérosols polydispersés à l'aide du logiciel LUDEP [48]. Travailleur « standard » respirant majoritairement par le nez suivant la classification de la CIPR [43].

Concentration and predicted regional deposition for the same exposure in terms of alveolar fraction. Calculation performed for four polydispersed aerosols using the LUDEP program [48]. "Standard" worker breathing mainly through the nose, according to CIPR classification [43].



moindre mesure, dans la région trachéo-bronchique du fait de leur très forte diffusivité. Il est intéressant de noter que, sur la gamme granulométrique comprise entre environ 10 nm et 200 nm, le mode de respiration a peu d'effet sur le dépôt total ainsi que sur les dépôts régionaux.

La Figure 3 indique également que la distribution du dépôt des particules ultra-fines est plus uniforme dans l'ensemble des voies respiratoires que pour les particules microniques. Ce dépôt plus diffus contribue directement à créer plus de sites d'interaction et donc une plus grande capacité pour les particules ultra-fines à être absorbées et à transporter des substances éventuellement toxiques [49].

La courbe de dépôt « en U » révèle une situation hypothétique particulière qu'il est important de discuter. D'après l'approche actuelle employée

en santé-travail, une même exposition conduit théoriquement à un même effet. Mais la Figure 4 indique que, alors que l'on est exposé à une même concentration (dans l'exemple en termes de fraction alvéolaire), la quantité déposée va croître lorsque le diamètre diminue, en particulier en deçà du minimum de dépôt. Ainsi, dans l'hypothèse où la quantité déposée dans l'arbre respiratoire est directement liée à un effet, on aboutit pour les particules ultra-fines à une sous-estimation possible du risque si l'on ne prend pas en compte le dépôt dans les voies respiratoires [50, 51]. Néanmoins, il semble déjà nécessaire, dans le cadre de l'évaluation de l'exposition aux aérosols ultra-fins, d'intégrer un critère de dépôt et non de pénétration dans un compartiment respiratoire comme c'est le cas pour les trois fractions conventionnelles (inhalable, thoracique et alvéolaire). Deux appro-

ches peuvent être envisagées pour l'échantillonnage de l'aérosol :

- l'utilisation d'un instrument dont l'efficacité d'échantillonnage serait représentative de la courbe de dépôt ;
- la caractérisation en taille et en concentration de la fraction submicro-nique de l'aérosol ambiant et l'estimation par le calcul de la fraction déposée.

Si l'on peut imaginer une instrumentation susceptible de répondre à la première approche, la deuxième approche semble plus facile à mettre en place car les outils de calcul validés pour le dépôt dans les voies respiratoires existent déjà [43]. Rappelons que cette dernière approche est utilisée en France en radioprotection pour l'évaluation de la fraction de dose interne lié à l'inhalation des aérosols radioactifs sur les lieux de travail [52].

ÉPURATION ET TRANSPORT DES PARTICULES ULTRA-FINES DANS LE CORPS HUMAIN

Pour comprendre les risques potentiels des particules ultra-fines il est nécessaire de considérer brièvement les mécanismes de défense.

Sur la *Figure 3*, on constate que chacune des trois régions des voies respiratoires est la cible du dépôt des particules ultra-fines.

L'épuration dans la région alvéolaire, région des voies respiratoires non ciliée, est un processus qui implique tout d'abord la phagocytose des particules par les macrophages, puis leur éventuelle solubilisation ou leur migration vers les zones ciliées où elles sont prises en charge par l'escalator mucociliaire [53].

Il a été observé lors d'études *in vitro* que la présence de particules ultra-fines en grand nombre avait un effet délétère sur la phagocytose par les macrophages alvéolaires [54, 55]. Cette diminution de la phagocytose pourrait être liée à l'activité oxydante plus forte des particules ultra-fines du fait de leur très grande surface développée [47].

L'impact que pourrait avoir une diminution de la phagocytose chez l'Homme est encore peu connu. Néanmoins, une diminution de la phagocytose pourrait aboutir à un plus gros potentiel pour les particules ultra-fines présentes en grand nombre à interagir avec la barrière épithéliale. Les particules ultra-fines pourraient alors pénétrer plus rapidement les espaces interstitiels [12], voire même entrer dans la circulation sanguine et finalement exercer des effets (dits systémiques) en-dehors du poumon. Ce passage direct est défendu par Nemmar et coll. [56] pour expliquer les effets cardiovasculaires observés chez l'Homme. D'autres auteurs avancent l'hypothèse que les effets systémiques sont la conséquence d'un stimulus inflammatoire puissant [57, 58].

Le dépôt des particules ultra-fines s'effectuant pour une part importante dans le compartiment extra-thoracique et notamment dans la région rhino-

pharyngée en respiration nasale (cf. *Figure 3*), des auteurs se sont très récemment intéressés à la translocation possible vers l'encéphale. Les résultats préliminaires d'une étude conduite sur le rat en exposition corps entier indiquent qu'environ 20 % des particules ultra-fines solides déposées sur la muqueuse olfactive peuvent migrer dans le bulbe olfactif [42]. Ce mode de répartition des particules ultra-fines semble être peu connu jusqu'alors et sa transposition à l'Homme demande maintenant à être établie.

La cinétique d'épuration de particules ultra-fines et la translocation restent encore des questions complexes et qu'il est difficile de traiter d'un point de vue expérimental, ce qui peut expliquer aussi la divergence de certains résultats [42]. Toutefois, il semble relativement évident que des mécanismes inconnus jusqu'alors sont mis en jeu dans le cas des particules ultra-fines.

EFFETS POTENTIELS SUR LA SANTÉ

De nombreux éléments montrent que les particules ultra-fines conduisent à des effets spécifiques sur la santé. Ces effets ont été étudiés par le biais de recherches épidémiologiques et toxicologiques.

ÉTUDES ÉPIDÉMIOLOGIQUES

Si l'épidémiologie ne permet pas d'élucider les mécanismes biologiques qui entrent en jeu dans l'apparition des effets sur la santé, elle a néanmoins un rôle essentiel qui est de clarifier la relation exposition-effet ou dose-effet chez l'Homme [59].

Les effets à court terme, c'est-à-dire sur quelques jours au plus, de la pollution particulaire ultra-fine environnementale sur la fonction respiratoire ont été mis en évidence dans différentes études de panels. Ces études conduites sur des sous-groupes sensibles de la population (par exemple, des adultes asthmatiques mais non fumeurs) montrent une corrélation positive entre des indicateurs de la fonction respiratoire (notamment une diminution du débit de pointe) ou la survenue de

symptômes (épisodes de toux, maux de gorge...) et la concentration dans l'atmosphère en particules. Dans ces études, les mesures d'exposition sont basées sur l'approche classique environnementale (PM₁₀, PM_{2,5}...) et des mesures plus spécifiques de concentration en nombre de particules suivant généralement plusieurs fractions dont celle inférieure à 0,1 µm. Si les corrélations sont plus ou moins statistiquement significatives suivant les études, on constate dans l'ensemble un effet réel des particules ultra-fines et une absence de corrélation avec la fraction massique PM₁₀ [60, 61]. Dans une étude réalisée sur un groupe d'adultes en bonne santé et non fumeurs, Hauser et coll. [62] ont démontré la présence de particules ultra-fines dans les macrophages alvéolaires ainsi qu'une corrélation négative entre le nombre de particules ultra-fines et le volume expiratoire forcé.

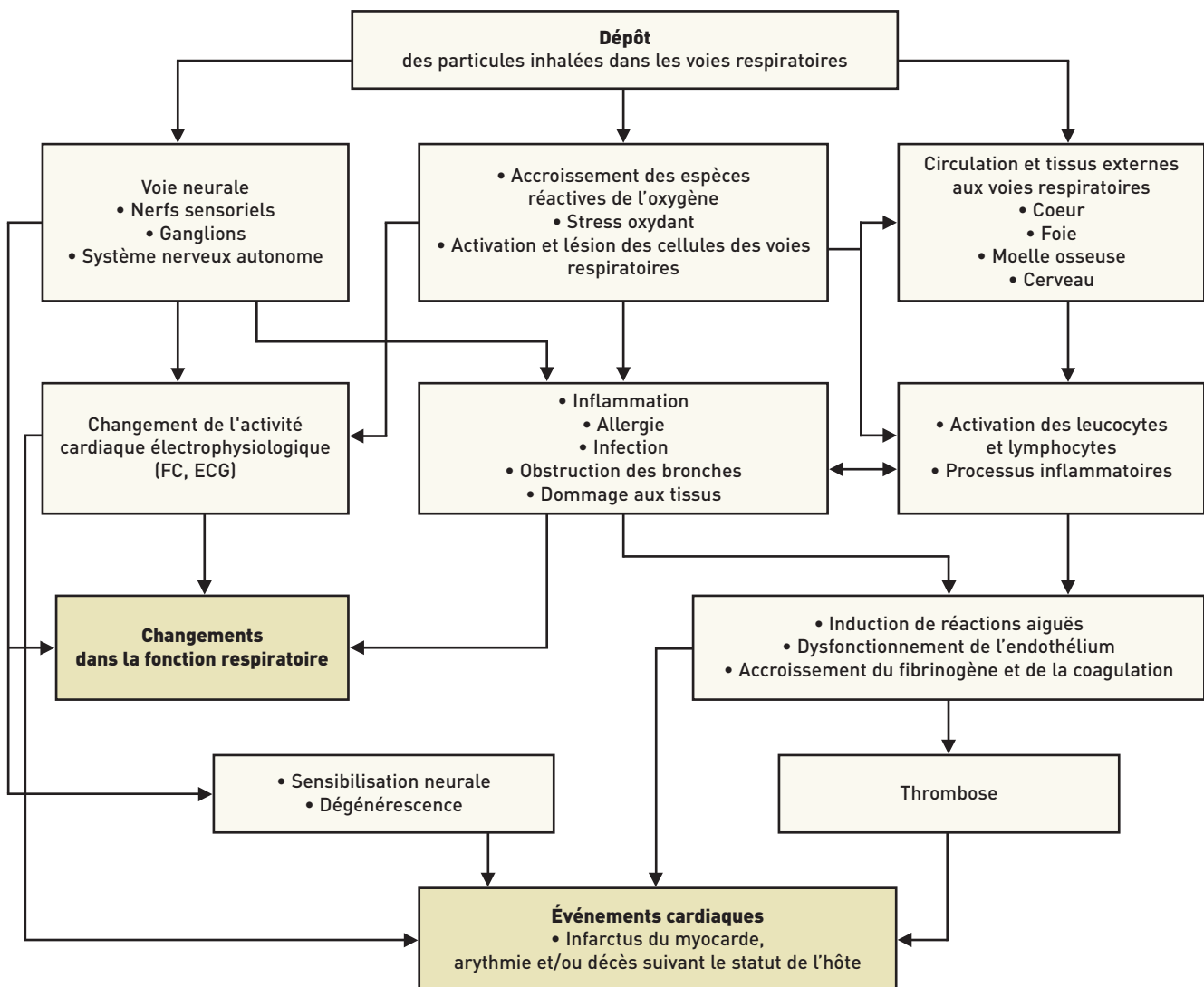
Des études de mortalité ont également montré que l'incidence de symptômes cardiovasculaires pouvait être liée, sans pour autant être statistiquement significative, au niveau de concentration dans l'atmosphère en particules ultra-fines observé quelques jours auparavant [63]. Une autre étude de panels conduite dans trois villes européennes a montré, entre autres, que c'était plutôt la fraction massique PM_{2,5} qui était associée à des symptômes cardiovasculaires que la concentration en nombre de particules ultra-fines [64].

À partir d'une analyse de séries de données historiques reliant un excès de risque de mortalité à une exposition à la pollution atmosphérique particulaire dans la région de Londres, Maynard et Maynard [65] ont pu montrer qu'il existait une relation linéaire entre le taux de mortalité et la concentration en particules lorsque celle-ci était exprimée suivant une métrique « surface », la relation n'étant pas linéaire pour la métrique « masse ». Plus récemment, dans une étude de panels, Moshhammer et Neuberger [66] ont montré que la concentration atmosphérique en « surface » des particules (mesurée à l'aide d'une technique de diffusion de charges) était un bon indicateur de l'apparition de symptômes respiratoires au sein d'une population de jeunes enfants scolarisés.

Les études épidémiologiques sur le thème des particules sont nombreuses mais elles ne se rapportent encore exclusivement qu'à la pollution particulaire atmosphérique urbaine ou péri-urbaine,

FIGURE 5

Hypothèses concernant les effets sur la santé des particules fines et ultra-fines de l'aérosol ambiant d'après Kreyling et coll. [13].
Hypotheses concerning health effects of fine and ultrafine ambient aerosol particles according to Kreyling et coll. [13].



pour laquelle le spectre granulométrique des particules en suspension est très large. Le rôle des particules ultra-fines dans les effets observés n'y est abordé que depuis quelques années. Toutes les études épidémiologiques ne sont pas concluantes quant aux effets sur la santé des particules ultra-fines et la recherche est nécessaire [67]. L'utilisation de données d'exposition agrégées et non individuelles expliquent en grande partie la difficulté pour conclure de façon certaine. Il est donc attendu qu'avec l'amélioration des techniques de mesures et leur adéquation à des mesures d'exposition, des effets plus nets pourraient être observés [10]. Enfin, un effort particulier doit être fait pour développer les études d'épidémiologie

de « prédiction », par opposition à une épidémiologie de constat, notamment dans le domaine de la santé au travail.

TOXICOLOGIE DES PARTICULES ULTRA-FINES

Il y a une quinzaine d'années dans une étude par instillation menée chez le rat, Oberdörster et coll. [68] ont démontré pour la première fois que des particules de TiO₂, de même forme cristallographique, conduisaient à une réaction inflammatoire beaucoup plus importante à dose massique équivalente lorsqu'elles étaient de taille nanométrique (~ 30 nm) que lorsque les particules étaient plus grosses (~ 250 nm).

De plus, les réponses inflammatoires du TiO₂ pouvaient être représentées indépendamment de la taille par une fonction monotone de la surface spécifique des particules. Rappelons que le TiO₂ a été considéré pendant longtemps comme une poussière non toxique dite « inerte » et, qu'à ce titre, il a servi comme poussière de contrôle dans un très grand nombre d'études de toxicologie des particules.

Cette étude clé a été à l'origine de plusieurs autres études menées par différentes équipes au niveau international, qui ont abouti à de nombreuses publications scientifiques. Le profil toxicologique des particules ultra-fines actuel résulte d'études expérimentales

in vivo chez l'animal et *in vitro* conduites durant cette dernière décennie. La *Figure 5* résume les conséquences possibles liées aux particules fines et ultra-fines une fois déposées sur l'épithélium des voies respiratoires et montre bien la réalité complexe de la question.

Parmi les nombreuses hypothèses actuelles sur les particules ultra-fines [13], on peut retenir que :

- leur surface, leur composition et leur structure sont des caractéristiques qui jouent un rôle essentiel dans les interactions avec les différentes cellules cibles, fluides et tissus de l'organisme ;
- elles sont à l'origine de la formation d'espèces radicalaires qui ont un rôle essentiel dans le processus d'inflammation ;
- elles ont une activité oxydante plus forte et sont la cause d'effets inflammatoires plus important que les particules de plus grande taille ;
- elles sont probablement impliquées dans des dommages de l'ADN cellulaire ;
- elles affectent les fonctions cardiaques, l'homéostasie vasculaire et l'immunité.

L'importance de la surface des particules a été confirmée depuis avec d'autres types de particules comme le noir de carbone, des particules peu solubles et faiblement toxiques (Al₂O₃, BaSO₄, TiO₂...), des métaux (Ni, Co...), le latex... Le concept de la concentration en surface comme métrique appropriée plutôt que la masse ou le nombre a été reconnu comme particulièrement adapté [47, 69, 70, 12, 71].

Parmi les études expérimentales les plus récentes, on peut citer celle de Faux et coll. [72] qui ont développé un test de toxicité *in vitro* sur des cellules épithéliales humaines de type II et employé ce dernier sur plusieurs types de particules. Un travail particulier d'interprétation a été également effectué afin de comparer les relations dose-réponse obtenues sur leurs essais *in vitro* à celles des essais *in vivo* publiés chez le rat. Ils observent que les relations dose-réponse sont directement comparables lorsque la dose est exprimée en surface des particules ultra-fines normalisée à la surface des cellules exposées. Pour les essais *in vitro*, la surface des cellules exposées correspond à celle des cellules épithéliales du test. Pour les résultats *in vivo*, il s'agit des cellules de la première couche du site de

dépôt des particules dans les poumons. Un autre point est qu'ils mettent en évidence l'existence d'un seuil au-delà duquel l'effet inflammatoire augmente de manière significative. Ce seuil dans les relations dose-réponse se situe autour de la valeur de 1 cm²/cm² et semble ne pas dépendre du type de particules testées. Les auteurs constatent que :

- La métrique « surface » est importante et recommandent que cette hypothèse soit testée sur un éventail large de type de particules ultra-fines pour être pleinement justifiée ;
- la relation directe observée entre dose *in vivo* et dose *in vitro* est potentiellement un outil d'évaluation du risque toxique intéressant. Elle devrait être affirmée par des études *in vitro* supplémentaires en utilisant les résultats des études *in vivo* publiées.

Ces différents éléments corroborent l'hypothèse avancée par Maynard et Maynard [64].

L'ensemble des données publiées indique que les particules ultra-fines (nanoparticules) de différentes sortes ont une toxicité spécifique. Ceci rend plausible l'hypothèse générique qu'un même matériau inhalé sous la forme de particules ultra-fines est plus toxique que lorsqu'il est inhalé sous la forme de particules plus grosses. Mais au-delà de la toxicité pure, c'est la question de la distribution dans l'organisme entier des particules ultra-fines à partir de leur site de dépôt, via des modes qui leur sont propres, qui est importante. Les particules ultra-fines peuvent donc conduire à des effets qui ne sont pas connus pour les particules « conventionnelles ». Ils convient alors de les considérer de manière particulière. C'est dans ce contexte qu'a été récemment proposé, au niveau international, une nouvelle catégorie de la toxicologie : la nanotoxicologie [68]. Des efforts de recherche doivent être faits notamment pour mieux comprendre la relation entre tailles des particules, paramètres de surface et translocation. De même, la question de la pertinence des modèles toxicologiques *in vitro* et *in vivo* chez l'Homme est primordiale. Enfin, cet effort indispensable de recherche doit être fait de manière concertée [73].

Les différents résultats épidémiologiques et toxicologiques remettent en

cause la pratique courante d'évaluation de l'exposition habituellement retenue en santé au travail et santé environnementale puisqu'ils suggèrent que la métrique « surface » et, dans une moindre mesure, la métrique « nombre » devraient constituer de bien meilleurs indicateurs d'exposition que la métrique « masse ».

CONCLUSION

Cette première partie révèle que les particules ultra-fines (nanoparticules) ont des caractéristiques physico-chimiques et des comportements dans l'air spécifiques qui les différencient parfois de manière nette des particules plus grosses. Ils contribuent également à en modifier le dépôt dans les voies respiratoires, l'épuration et le transport dans le corps humain.

De nombreux éléments témoignent des effets spécifiques sur la santé liés aux particules ultra-fines, ces effets ayant été mis en évidence par des recherches toxicologiques et, dans une moindre mesure, épidémiologiques. Dans l'ensemble, les données publiées indiquent que les particules ultra-fines de différentes sortes ont une toxicité spécifique, ce qui rend plausible l'hypothèse générique qu'un même matériau inhalé sous la forme de particules ultra-fines est plus toxique que lorsqu'il est inhalé sous la forme de particules plus grosses. Mais au-delà de la toxicité pure, c'est également la question de la distribution dans l'organisme entier des particules ultra-fines à partir de leur site de dépôt, via des modes qui leur sont propres, qui est importante (par exemple, la translocation). Les particules ultra-fines peuvent donc conduire à des effets qui ne sont pas connus pour des particules « conventionnelles ». Des efforts de recherche doivent être faits pour approfondir ce point.

Il convient également de souligner que les différents résultats épidémiologiques et toxicologiques remettent en cause le paradigme de la masse dans le domaine de l'évaluation des risques professionnels. Ils suggèrent de façon de plus en plus évidente que la métrique « surface » et dans une moindre mesure la métrique « nombre » devraient constituer de bien meilleurs indicateurs d'exposition que la métrique « masse ».

Au-delà de la métrique, d'autres paramètres semblent également essentiels comme la taille des particules, leur morphologie, leur structure, leur activité de surface...

La toxicité des particules ultra-fines abordée dans ce premier article ne

représente qu'un volet de la question du risque pour la santé au travail. Il est tout aussi important de s'interroger sur l'exposition professionnelle en termes de sources sur les lieux de travail et de caractérisation. C'est l'objet de la partie 2 : Sources et caractérisation de l'exposition professionnelle [74].

Reçu le : 15/02/2005

Accepté le : 08/04/2005

BIBLIOGRAPHIE

- [1] Décret n° 2003-1254 du 23 décembre 2003 relatif à la prévention du risque chimique et modifiant le code du travail. J.O N° 300 du 28 décembre 2003, p. 22329.
- [2] Valeurs limites d'exposition professionnelle aux agents chimiques en France. INRS, Hygiène et Sécurité du travail - Cahiers de Notes Documentaires. 2e édition. ND 2098. 2005.
- [3] Décret N° 2002-213 du 15 février 2002 portant transposition des directives 1999/30/CE du Conseil du 22 avril 1999 et 2000/69/CE du Parlement européen et du Conseil du 16 novembre 2000 et modifiant le décret N° 98-360 du 6 mai 1998 relatif à la surveillance de la qualité de l'air et de ses effets sur la santé et sur l'environnement, aux objectifs de qualité de l'air, aux seuils d'alerte et aux valeurs limites. J.O N° 42 du 19 février 2002, p. 3198.
- [4] VINCENT J.H. – Aerosol science for Industrial Hygienists. New York, Pergamon, 1995, 411 p.
- [5] WATSON J.G., CHOW J.C. – Ambient Air Sampling. In : BARON P.A., WILLEKE, K. (éd.) – Aerosol Measurement, Principles, Techniques and Applications. 2e éd. New York, Wiley Interscience, 2001, pp. 821-844.
- [6] MCMURRY P.H., WOO, K.S. – Size distributions of 3-100-nm urban Atlanta aerosols : measurement and observations. J. Aerosol Medicine, 2002, 15, pp. 169-178.
- [7] WIEDENSOHLER A., WEHNER B., BIRMILI W. – Aerosol number concentration and size distributions at mountain-rural, urban-influenced rural, and urban-background sites in Germany. J. Aerosol Medicine, 2002, 15, pp. 237-243.
- [8] ZHU Y., HINDS W.C., KIM S., SIOUTAS C. – Concentration and size distribution of ultrafine particles near a major highway. Air & Waste Manage Assoc, 2002, 52, pp. 1032-1042.
- [9] SEATON A., MACNEE W., DONALDSON K., GODDEN D. - Particulate air pollution and acute health effects. The Lancet, 1995, 345, pp. 176-178.
- [10] IBALD-MULLIA, WICHMANN H.E., KREYLING W., PETERS A. - Epidemiological evidence on health effects of ultrafine particles. J. Aerosol Medicine., 2002, 15, pp. 189-201.
- [11] DONALDSON K., BROWN D., CLOUTER A., DUFFIN R., MACNEE W., RENWICK L., TRAN L., STONE V. – The pulmonary toxicology of ultrafine particles. J. Aerosol Med., 2002, 15, pp. 213-220.
- [12] OBERDÖRSTER G. – Pulmonary effects of inhaled ultrafine particles. Int Arch Occup Environ Health, 2001, 74, pp. 1-8.
- [13] KREYLING W.G., SEMMLER M., MÖLLER W. – Dosimetry and toxicology of ultrafine particles. J. Aerosol Medicine., 2004, 17, pp. 140-152.
- [14] OBERDÖRSTER G., SHARP Z., ATUDOREI V., ELDER A., GELEIN R., KRYELING W., COX C. – Translocation of inhaled ultrafine particles to the brain. Inhalation Toxicology, 2004, 16, pp. 437-445.
- [15] HERVE-BAZIN B. – De la nécessité de faire un point sur les dangers des particules ultra-fines. Hygiène et Sécurité du travail – Cahiers de Notes Documentaires, 2004, 197, pp 53-60.
- [16] AITKEN R.J., CREELY K.S., TRAN C.L. – Nanoparticles: An occupational hygiene review. Research Report, HSE Books, 2004, Edinburgh, UK, 102 p.
- [17] PRITCHARD D.K. – Literature review – explosion hazards associated with nanopowders. HSL report, 2004, HSL/2004/12, Health and Safety Laboratory, Buxton, UK 22 p.
- [18] BEYDOU D., AMAL R. LOW G., MCEVOY S. – Role of nanoparticles in photocatalysis. Journal of Nanoparticle Research, 1999, 1, pp. 439-458.
- [19] ROBERT J.L. – Les nanosciences, à l'intersection des sciences fondamentales et des technologies. IN : Les Nanotechnologies, Réalités industrielles, février 2004, Annales des Mines, Edition ESKA, Paris, pp. 16-21.
- [20] FRIEDLANDER, S.K. - Smoke, Dust, and Haze. Fundamentals of Aerosol Dynamics. 2e éd. Oxford, Oxford University Press, 2000, 407 p.
- [21] NÜTZENADEL C., ZÜTTEL A., CHARTOUNI D., SCHMID G., SCHLAPBACH L. – Critical size and surface effects of the hydrogen interaction of palladium clusters. Eur. Phys. J. D, 2000, 8, pp. 245-250.
- [22] CAO G. – Nanostructures & nanomaterials. Synthesis, Properties & Applications. London, Imperial College Press, 2004, 433 p.
- [23] PREINING O. – The physical nature of very, very small particles and its impact on their behavior. Journal of Aerosol Science, 1998, 29,5/6, pp. 481-495.
- [24] JEFFERSON D.A. – The surface activity of ultrafine particles. Phil. Trans. R. Soc. London. A, 2000, 358, pp. 2683-2692.
- [25] BELL A.T. – The impact of Nanoscience on heterogenous catalysis. Science, 14 mars 2003, 299, pp. 1688-1691.
- [26] JEFFERSON D.A., TILLEY E.E.M. – The structural and physical chemistry of nanoparticles. In: Particulate Matter: Properties and effects upon health . MAYNARD R.L. and HOWARD C.V. (éd.) Oxford, BIOS Scientific Publishers Ltd, 1999, pp. 63-82.
- [27] VINCENT J.H. – Aerosol Sampling - Science and Practice. Chichester, John WILEY & Sons, 1989, 390 p.
- [28] MAYNARD A.D. – Overview of methods for analysis single ultrafine particles. Phil. Trans. R. Soc. London. A, 2000, 358, pp. 2593-2610.
- [29] WITSCHGER O. – Mise en suspension de contamination particulaire radioactive – Synthèse bibliographique. Rapport IPSN/DPEA/SERAC, 1999, 99-13, 170 p.

[30] ALLOUL, L. – Réentraînement par écoulement d'air d'une contamination particulaire déposée sur une surface. Thèse de doctorat, 2002, Université Paris XII, 218 p.

[31] pr NF EN 15051 – Atmosphères des lieux de travail – Mesure du pouvoir de resuspension dû aux matériaux pulvérulents en vrac – Exigences et méthodes références d'essai. Paris, AFNOR, 2005, 24 p.

[32] SMT4-CT96-2074 – Development of a method for dustiness testing – Final report of EU contract SMT4-CT96-2074. HSE Report, 2000, IR/L/M/00/11, Health and Safety Laboratory, Sheffield, UK.

[33] PARK S.H., LEE K.W., OTTO E., FISSAN H. - The log-normal size distribution theory of brownian aerosol coagulation for the entire particle size range: part I - Analytical solution using the harmonic mean coagulation kernel. *Journal of Aerosol Science*, 1999, 30, 1, pp. 3-16.

[34] MAYNARD A.D., ZIMMER T.A. – Development and validation of a simple numerical model for estimating workplace aerosol size distribution evolution through coagulation, settling, and diffusion. *Aerosol Science and Technology*, 2003, 37, pp. 804-817.

[35] JAMRISKA M., MOWSKA L., CLARK B.A. – Effect of ventilation and filtration on submicrometer particles in an indoor environment. *Indoor Air*, 2000, 10, pp 19-26.

[36] LEE K.W., MUKUND R. – Filter Collection. In : BARON P.A., WILLEKE, K. (éd.) – *Aerosol Measurement, Principles, Techniques and Applications*. 2e éd. New York, Wiley Interscience, 2001, pp. 197-228.

[37] WANG H.C., KASPER G. – Filtration efficiency of nanometer-size aerosol particles. *Journal of Aerosol Science*, 1991, 22, 1, pp. 31-41.

[38] BALAZY A., PODGORSKI A., GRADON L. – Filtration of nanosized aerosol particles in fibrous filter. I – Experimental results. *Journal of Aerosol Science*, 2004, abstracts of the European Aerosols Conference, Budapest 2004, Volume I, S967-S968.

[39] QIAN Y., WILLEKE K., GRINSHPUN S.A., DONNELLY J., COFFEY C.C. - Performance of N95 Respirators: Filtration Efficiency for Airborne Microbial and Inert Particles. *Journal of Occupational and Environmental Hygiene*, 1998, 59, pp. 128 – 132.

[40] LEE B.U., YERMAKOV M., GRINSHPUN S.A. – Unipolar ion emission enhances respiratory protection against fine and ultrafine particles. *J. Aerosol Science*, 2004, 35, pp. 1359-1368.

[41] NF EN 481 (X43-276) – Atmosphères des lieux de travail. Définitions des fractions de taille pour le mesurage des particules en suspension dans l'air. Paris, AFNOR, novembre 1993, 16 p.

[42] SEMMLER M., SEITZ J., ERBE F., MAYER P., HEYDER J., OBERDÖRSTER G., KREYLING W.G. – Long-term clearance kinetics of inhaled ultrafine soluble iridium particles from the rat lung, including transient translocation into secondary organs. *Inhalation Toxicology*, 2004, 16, pp. 453-459.

[43] CIPR - Commission Internationale pour la Protection Radiobiologique. Publication 66 : Human Respiratory Tract Model for Radiological Protection. Oxford, Pergamon, 1994, 24, N° 1-3, 482 p.

[44] NCRP – National Council on Radiation Protection and Measurements. Deposition, retention and dosimetry of inhaled radioactive substances. Report 125. Bethesda, MD : NCRP, 1997, 253 p.

[45] KIM C.S., JACQUES P.A. – Respiratory dose of inhaled ultrafine particles in healthy adults. *Phil. Trans. R. Soc. London. A*, 2000, 358, pp. 2693-2705.

[46] DAIGLE C.C., CHALUPA D.C., GIBB F.R., MORROW P.E., OBERDÖRSTER G., UTELL M.J., FRAMPTON M.W. - Ultra-fine particle deposition in humans during rest and exercise. *Inhal Toxicol*, 2003, 15(6), pp. 539-552.

[47] DONALDSON, K., STONE, V., GILMOUR P.S., BROWN D.M., MACNEE W. – Ultrafine particles: mechanisms of lung injury. *Phil. Trans. R. Soc. London. A*, 2000, 358, pp. 2741-2749.

[48] LUDEP - Program for implementing the ICRP 66 Respiratory Tract Model, version 2.07, June 2000, Chilton, Didcot, OXON, NRPB, UK.

[49] ZHANG Z., KLEINSTREUER C., DONOHUE J.F., KIM C.S. – Comparison of micro- and nano-size particle depositions in a human upper airway model. *J Aerosol Sci*, 2005, 36, pp. 211-233.

[50] MCCAWLEY M.A. - Particle size-selective criteria for deposited submicrometer particles. In: *Particle Size-Selective Sampling for Particulate Air Contaminants*. Vincent J.H. (éd.) Cincinnati, ACGIH, 1999, pp. 211-223.

[51] ESMEN N.A., JOHNSON D.L., AGRON G.M. – The variability of delivered dose of aerosols with the same respirable concentration but different size distributions. *Annals of Occupational Hygiene*, 2002, 46, pp. 401-407.

[52] Décret n°2003-296 du 31 mars 2003 relatif à la protection des travailleurs contre les dangers des rayonnements ionisants. *J.O N° 78* du 2 avril 2003, p. 5779.

[53] MARTINET, Y., ANTHOINE, D. PETIET, G. - Les maladies respiratoires d'origine professionnelle. 2e éd. Paris, Masson, Collection Médecine du Travail, 1999, 288 p.

[54] RENWICK L.C., DONALDSON K., CLOUTER A. – Impairment of alveolar macrophage phagocytosis by ultrafine particles. *Toxicology and Applied Pharmacology*, 2001, 172, pp. 119-127.

[55] LUNDBORG M., JOHARD U., LASTROM L., GERDE P., CAMNER P. – Human alveolar macrophage phagocytic function is impaired by aggregates of ultrafine carbon particles. *Environmental Research Section A*, 2001, 86, pp. 244-253.

[56] NEMMAR A., HOYLAERTS M.F., HOET P.H.M., NEMERY B. – possible mechanisms of the cardiovascular effects of inhaled particles : systemic translocation and prothrombic effects. *Toxicology Letters*, 2004, 149, pp. 243-253.

[57] ELDER A.C., GELEIN R., AZADNIV M., FRAMPTON M., FINKELSTEIN J., OBERDÖRSTER G. – Systemic effects of inhaled ultrafine particles in two compromised, aged rat strains. *Inhalation Toxicology*, 2004, 16, pp. 461-471.

[58] BROWN J.S., ZEMAN K.L., BENNETT W.D. – Ultrafine particle deposition and clearance in the healthy and obstructed lung. *Am J Respir Crit Care Med*, 2002, 166, pp. 1240-1247.

[59] LIPMANN M., ITO K. – Contributions that epidemiological studies can make to the search for a mechanistic basis for the health effects of ultrafine and larger particles. *Phil. Trans. R. Soc. London. A*, 2000, 358, pp. 2787-2797.

[60] PETERS A., WICHMANN H.E., TUCH T., HEINRICH J., HEYDER J. – Respiratory effects are associated with the number of particles. *Am J Respir Crit Care Med*, 1997, 155, pp. 1376-1383.

[61] PENTTINEN P., TIMONEN K.L., TIITTANEN P., MIME A., RUUSKANEN, PEKKANEN J. – Number concentration and size of particles in urban air: effects on spirometric lung function in adult asthmatic subjects. *Environmental Health Perspectives*, 2001, 109, pp. 319-323.

[62] HAUSER R., GODLESKI J.J., HATCH V., CHRISTIANI D.C. – Ultrafine particles in human lung macrophages. *Archives of Environmental Health*, 2001, 56, pp. 150-156.

[63] WICHMANN H.E., PETERS A. – Epidemiological evidence of the effects of ultrafine particle exposure. *Phil. Trans. R. Soc. London. A*, 2000, 358, pp. 2751-2769.

[64] HARTOG J.J., HOEK G., PETERS A., TIMONEN K.L., IBALD-MULLI A., BRUNEKREEF B., HEINRICH J., TIITTANEN P., VAN WIJNEN J.H., KREYLING W., KULMALA M., PEKKANEN J. – Effects of fine and ultrafine particles on cardio-respiratory symptoms in elderly subjects with coronary heart disease. The ULTRA study. *American Journal of Epidemiology*, 2003, 157, pp. 613-623.

[65] MAYNARD A.D., MAYNARD R.L. – A derived association between ambient aerosol surface area and excess mortality using historic time series data. *Atmospheric Environment*, 2002, 36, pp. 5561-5567.

[66] MOSHAMMER H., NEUBERGER M. – The active surface of suspended particles as a predictor of lung function and pulmonary symptoms in Austrian school children. *Atmospheric Environment*, 2003, 37, pp. 1737-1744.

[67] ENGLERT N. – Fine particles and human health – a review of epidemiological studies. *Toxicology Letters*, 2004, pp. 235-242.

[68] OBERDÖRSTER G., FERIN J., FINKELSTEIN G., WADE P., CORSON N. – Increased pulmonary toxicity of ultrafine particles? II. Lung lavage studies. *J Aerosol Sci*, 1990, 21, pp. 384-387.

[69] DONALDSON, K., STONE, V., TRAN, C.L., KREYLING W., BORN, P.J.A. – Nanotoxicology. *Occup Environ Med*, 2004, 61, pp. 727-728.

[70] OBERDÖRSTER G. – Toxicology of ultrafine particles. *Phil. Trans. R. Soc. London. A*, 2000, 358, pp. 2719-2740.

[71] TRAN C.L., BUCHANAN D., CULLEN R.T., SEARL A., JONES A.J., DONALDSON K. – Inhalation of poorly soluble particles. II. Influence of particle surface area on inflammation and clearance. *Inhalation Toxicology*, 2000, 12, pp. 1113-1126.

[72] FAUX S.P., TRAN C.L., MILLER B.G., JONES A.D., MONTEILLER C., DONALDSON K. – In vitro determinants of particulate toxicity: the dose-metric of poorly soluble dust. Research report 154, HSE Books, 2003, Suffolk, UK, 52 p.

[73] WARHEIT D. – Nanoparticles: health impacts? *MaterialsToday*, 2004, February, pp. 32-35.

[74] WITSCHGER O., FABRIES J.-F. – Particules ultra-fines et santé au travail 2. Sources et caractérisation de l'exposition – INRS, Hygiène et Sécurité du travail - Cahiers de Notes Documentaires. ND 2228. 2005, 199.

[75] CDC, NIOSH. Respiratory Protective, final rules and notices. 1995. Center for Disease Control and prevention, National Institute for Occupational Safety and Health.