

Noir de carbone nanostructuré : vers une valeur limite d'exposition professionnelle

AUTEURS :

S. Binet¹, E. Belut², S. Chazelet³, L. Gaté³, R. Guichard², G. Hedelin⁴, S. Malard⁵, B. Oury⁶, M. Ricaud⁷ et D. Rousset⁶

EN RÉSUMÉ

Cet article a pour objectif d'engager des réflexions sur la possibilité de définir une valeur limite d'exposition professionnelle (VLEP) pour le noir de carbone nanométriques en proposant une démarche pour l'évaluation de l'exposition à ces aérosols ainsi que les principales mesures de prévention à recommander.

¹Direction Études et recherches, ²Département Ingénierie des procédés, ³Département Toxicologie et biométrie, ⁴Département Épidémiologie en entreprise, ⁵Département Études et assistance médicales, ⁶Département Métrologie des polluants, ⁷Département Expertise et conseil technique, INRS

MOTS CLÉS

Valeur limite /
Risque chimique /
Évaluation
des risques /
Nanoparticule /
Particule



© Gaël Kerbaol / INRS

GÉNÉRALITÉS

Le noir de carbone (NC), nommé également noir d'acétylène, noir de fumée, noir de fourneau, noir au tunnel ou noir thermique, est composé de carbone élémentaire pratiquement pur (98 à 99,7 %) et se présente sous la forme de particules primaires quasi sphériques de diamètres moyens compris entre 10 et 500 nanomètres (nm). Les particules primaires forment des agrégats (de 50 à 600 nm) de morphologie acineuse (grappe) qui se regroupent en agglomérats (de 1 à plus de 100 µm).

Les NC sont produits par combustion partielle ou par décomposition thermique d'hydrocarbures liquides ou gazeux dans des conditions contrôlées. Ils présentent une large répartition granulométrique, une surface spécifique élevée et un état d'agrégation variable. Les NC diffèrent de la suie, sous-produit incontrôlé de la combustion incomplète de toutes sortes de matières carbonées, qui présente une composition imprécise et variable (elle peut notamment contenir plus de 50 % de cendres). Les NC diffèrent en fonction des matières premières utilisées, des conditions de combustion et de

Noir de carbone nanostructuré :
vers une valeur limite d'exposition
professionnelle

décomposition thermique [1, 2] :

- le noir de fourneau (diamètre moyen des particules primaires de 10 à 400 nm), produit principalement par combustion incomplète de résidus pétroliers lourds ou de gaz naturels. Il est le plus commercialisé (95 % de la production mondiale) ;
- le noir thermique (diamètre moyen des particules primaires de 120 à 500 nm), obtenu par décomposition thermique de gaz naturels. Il est composé des particules les moins fines. Il représente 2 % de la production aux États-Unis, en Europe de l'Ouest et au Japon ;
- le noir d'acétylène (diamètre moyen des particules primaires de 30 à 50 nm), produit par craquage de l'acétylène à des températures très élevées. Il est l'un des NC le plus pur ;
- le noir de fumée (diamètre moyen des particules primaires de 60 à 200 nm), obtenu par combustion incomplète d'hydrocarbures de goudron. Initialement destiné à fournir le pigment de l'encre de Chine (noir de lampe), il montra fortuitement en 1912 ses qualités exceptionnelles de renforcement des pneumatiques en caoutchouc ;
- le noir au tunnel (diamètre moyen des particules primaires de 10 à 30 nm), produit par combustion incomplète de gaz naturels. Il représentait la forme la plus commercialisée au début du XX^e siècle, il n'est actuellement plus fabriqué, sauf en Allemagne. Il est composé de très fines particules peu agrégées.

Les particules primaires (nommées parfois nodules) de NC se lient entre elles par des liaisons covalentes et s'organisent pour former des entités tridimensionnelles complexes denses appelées agrégats. Ces structures en branches, ouvertes et ramifiées, peuvent inclure jusqu'à une centaine de particules primaires

chacune, leur diamètre varie en fonction du type de NC (tableau I). Les agrégats peuvent s'assembler à leur tour en amas peu compacts sous l'action des forces attractives du type Van der Waals pour former des agglomérats de taille inférieure à 2 mm (figure 1). Ils peuvent également être comprimés pour former des billes pouvant atteindre 0,5 cm de diamètre, dont la cohésion peut être renforcée par des liants de type mélasses. Un NC présentant un fort état d'agrégation est dit de structure élevée, la structure étant déterminée par le diamètre et la morphologie des agrégats, le nombre de particules primaires par agrégat et leur masse moyenne. L'état d'agrégation (le diamètre et la répartition des agrégats) est un critère important d'applicabilité, notamment en ce qui concerne l'adsorption d'huile (capacité du NC à absorber des liquides du fait d'une porosité ouverte).

La surface spécifique des NC s'étend de 6 m²/g pour le noir thermique à 240 m²/g pour le noir de fourneau. En raison des matières premières utilisées, de leur mode de production et de leur surface spécifique, les NC présentent généralement des substances adsorbées à leur surface (hydrocarbures aromatiques polycycliques et leurs dérivés nitrés et soufrés), toutefois dans de faibles quantités. **Des traces de composés inorganiques peuvent également être présentes :** calcium, fer, potassium, plomb, arsenic, chrome, sélénium.

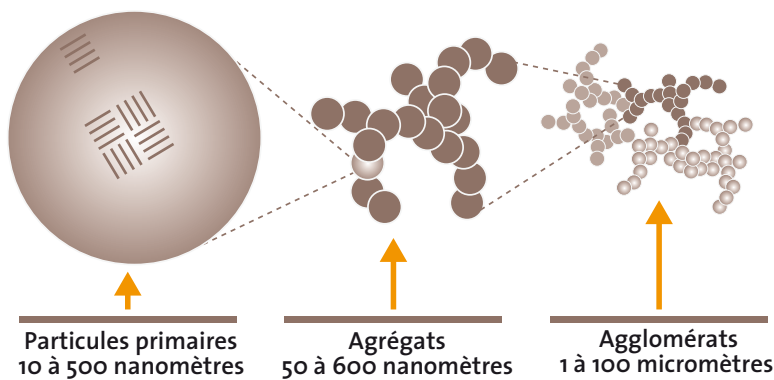
Le noir de carbone est insoluble dans l'eau et les solvants organiques. La fabrication du NC remonte à des temps très anciens : en 1500 avant notre ère, les Chinois produisaient déjà du NC à partir d'huiles végétales. La production mondiale est actuellement d'environ 11 millions de tonnes par an. Près de 60 % proviennent d'Asie-Pacifique, 15 %

↓ **Tableau I**

> **PROPRIÉTÉS DIMENSIONNELLES DU NOIR DE CARBONE [1]**

Noir de carbone	Diamètre des particules primaires (nm)	Surface spécifique (m ² /g)	Diamètre des agrégats (nm)
Noir de fourneau	10 à 400	12 à 240	50 à 400
Noir thermique	120 à 500	6 à 15	400 à 600
Noir d'acétylène	30 à 50	15 à 70	350 à 400
Noir de fumée	60 à 200	15 à 25	300 à 600
Noir au tunnel	10 à 30	90 à 500	50 à 200

Figure 1 : Des particules primaires aux agglomérats (d'après [1, 2])



d'Amérique du Nord, 12 % d'Europe et 16 % du reste du monde. La plupart des nombreux acteurs sont réunis dans l'Association internationale du noir de carbone. Les NC commerciaux sont vendus sous forme de poudres (agrégats liés entre eux pour former des agglomérats) ou de billes (agrégats comprimés).

Environ 90 % des NC produits sont utilisés dans l'industrie du caoutchouc pour le renfort, notamment des pneumatiques et des chambres à air (pour 65 %) ainsi que dans d'autres pièces mécaniques comme les bandes transporteuses, les câbles et les courroies. Une proportion additionnelle de 9 % sert de pigment noir dans les encres (d'imprimerie, de lithographie, de typographie et de photographie), les peintures, les laques, les vernis, les enduits, les plastiques, les fibres, les émaux et les céramiques. Le 1 % restant est utilisé dans la fabrication de centaines de produits divers et variés, notamment de batteries, d'électrodes, de balais de carbone, de conducteurs électriques, de blindage contre l'interférence électromagnétique, de produits en caoutchouc et en plastique conducteurs et antistatiques, de vidéodisques et bandes vidéo [1, 2]...

Les plus fortes expositions aux NC sont observées dans les secteurs

professionnels interagissant avec la production (emballeurs, agents de nettoyage...). En effet, les expositions sont très variables dans les chaînes de production et d'un site géographique à l'autre ; les améliorations techniques ont conduit à leur diminution progressive. Les concentrations atmosphériques sont ainsi passées de 1000 mg/m³ dans les années 1960 à moins de 1 mg/m³ au début des années 1990. Vers la fin des années 1990, les concentrations en fraction alvéolaire étaient inférieures à 0,5 mg/m³. Des niveaux d'exposition moindres ont été observés chez les travailleurs utilisant des NC dans la fabrication de matériaux en caoutchouc, d'encres et de peintures (à l'exception de ceux qui manipulent de grandes quantités). Il est admis que l'utilisation de matériaux dans lesquels les NC sont inclus dans une matrice, comme les caoutchoucs ou les encres, n'entraîne vraisemblablement pas d'exposition significative [3, 4].

En France, il n'existe pas de valeur limite d'exposition professionnelle (VLEP) réglementaire pour les NC ; il existe néanmoins, depuis 1993, une VLEP à caractère indicatif mesurée sur une durée de travail de 8 heures de 3,5 mg/m³ équivalente à celle de l'ACGIH¹. Il n'existe pas de valeur correspondante en Allemagne.

LES EXPOSITIONS PROFESSIONNELLES

L'extraction des données de concentrations atmosphériques en NC contenues dans la base de données COLCHIC a été réalisée sur l'ensemble de la période 1985 - mai 2018. Néanmoins, les premières données en NC enregistrées dans la base datent de 1994, ce qui n'exclut pas l'existence d'expositions professionnelles au NC avant cette date. Au total, 326 données sont disponibles pour les NC. Les prélèvements atmosphériques représentent 278 résultats, dont 2 par analyse directe (compteur) et 276 par gravimétrie. Sur ces 276, 2 résultats renvoient « non déterminé » ou « analyse impossible ». Les prélèvements en fraction alvéolaire représentant 8 mesures : ces données ont également été exclues du fait du nombre trop restreint de résultats. **Ainsi, au total, 266 résultats d'analyse de la concentration atmosphérique de NC ont été pris en compte sur la période 1994-2018.**

Les valeurs sont comprises entre 0,005 et 33,73 mg/m³ avec une médiane à 0,6 mg/m³ (tableau II). Le secteur « Fabrication d'autres produits chimiques inorganiques de base n.c.a » (code NAF 2013B)

1. American Conference of Governmental Industrial Hygienists

* **2013B** Fabrication d'autres produits chimiques inorganiques de base n.c.a
2211Z Fabrication et rechapage de pneumatiques
2219Z Fabrication d'autres articles en caoutchouc
2720Z Fabrication de piles et d'accumulateurs électriques
2790Z Fabrication d'autres matériels électriques
2829B Fabrication d'autres machines d'usage général
2932Z Fabrication d'autres équipements automobiles
3109B Fabrication d'autres meubles et industries connexes de l'ameublement
4669A Commerce de gros (commerce interentreprises) de matériel électrique
5819Z Autres activités d'édition

↓ Tableau II

> STATISTIQUES RÉSUMÉES DES DONNÉES DE CONCENTRATIONS ATMOSPHÉRIQUES EN NOIR DE CARBONE (NC) CONTENUES DANS LA BASE DE DONNÉES COLCHIC (1994-2018) EN FONCTION DU SECTEUR D'ACTIVITÉ (lorsque le nombre de mesures est inférieur à 10, seuls le minimum et le maximum sont renseignés).

[NC] (mg/m ³)	Total (n=266)	Secteur d'activité (code NAF ci-contre*)									
		2013B (n=217)	2211Z (n=6)	2219Z (n=13)	2720Z (n=4)	2790Z (n=4)	2829B (n=5)	2932Z (n=4)	3109B (n=2)	4669A (n=3)	5819Z (n=8)
Moyenne	1,56	1,61		2,13							
Médiane	0,6	0,64		0,83							
Écart-type	3,37	3,47		2,27							
Minimum	0,005	0,005	0,2	0,1	0,11	0,02	0,145	0,25	0,52	0,04	0,01
Maximum	33,73	33,73	18,08	7,1	0,17	0,1	2,07	1,01	2,17	0,04	3,2
1 ^{er} quartile	0,15	0,20		0,3							
3 ^e quartile	1,56	1,60		3,4							

Noir de carbone nanostructuré : vers une valeur limite d'exposition professionnelle

représente à lui seul 82 % des données (tableau II). Les tâches liées à ce secteur d'activités sont essentiellement des tâches d'ensachage ou de chargement de trémies ou de silos (tableau III).

DEVENIR DANS L'ORGANISME ET MÉCANISME DE TOXICITÉ

Le tableau IV présente les principales caractéristiques des noirs de carbone commercialisés et ayant fait l'objet d'études toxicologiques mentionnées dans l'article.

TOXICOCINÉTIQUE

Les particules sont inhalées soit sous forme unitaire, soit nanostructurées, en agrégats et/ou agglomérats, ce qui affecte leur comportement dans l'air et les probabilités de dépôt dans les différents compartiments de l'appareil respiratoire ainsi que leur cinétique d'élimination. Ainsi, et selon la Commission internationale de protection radiologique (ICRP) [5], le dépôt de ces particules dans l'ensemble du tractus respiratoire concerne environ 20-30 % des particules de 100 nm, 40-50 % des particules de 50 nm et près de 90 % des particules de 10 nm. Les particules entre 10 et 100 nm se répartissent majoritairement au niveau alvéolaire, avec un pic de dépôt entre 50 et 60 % pour les particules de 10-20 nm. Les études de toxicocinétique chez l'animal exposé par inhalation ne sont pas exactement transposables à l'homme du fait de différences de géométrie de l'arbre trachéo-bronchique et de localisation d'impaction des particules [6] mais aussi leur devenir au niveau alvéolaire [7].

CLAIRANCE ALVÉOLAIRE (DEMI-VIE)

La rétention des particules insolubles ou très peu solubles dans le système respiratoire résulte de la balance entre les vitesses de dépôt et d'élimination (clairance). Les particules se déposant dans l'arbre trachéo-bronchique sont éliminées par la clairance mucociliaire qui est relativement rapide. Celles qui se déposent dans le compartiment alvéolaire subissent une phagocytose par les macrophages puis, après migration vers les bronches, sont éliminées par la clairance mucociliaire puis expectorées ou dégluties. La surcharge pulmonaire, un concept qui a été défini par Morrow [8] pour les particules dites sans effet spécifique, apparaît lorsque les mécanismes de clairance médiés par les macrophages sont dépassés.

Chez le rongeur [1], les particules ultrafines de NC ont provoqué une diminution dose-dépendante de la clairance par les macrophages alvéolaires, se produisant à des doses plus faibles par rapport aux particules plus grosses (micrométriques).

Dans l'étude de Elder et al. [9], un des objectifs était de déterminer les demi-vies de rétention ($T_{1/2}$) chez le rats F344, selon un protocole d'exposition subchronique par inhalation (6 h/j, 5 j/sem, 13 sem) au NC Printex® 90 (P90, noir de fourneau) à 0, 1, 7 ou 50 mg/m³ (14 nm ; Dae¹ agrégats 1,2-2,4 µm ; 300 m²/g). Les demi-vies de rétention des particules indiquées pour le rat, recalculées à partir des données de Elder et al. [9], ont été publiées par Pauluhn et al. [10, 11] : 107 j (1 mg/m³), 329 j (7 mg/m³) et 667 j (50 mg/m³) respectivement. La demi-vie normalement admise pour les particules faiblement toxiques, faiblement

solubles étant d'environ 60 j, la surcharge pulmonaire a été observée dès 7 mg/m³.

TRANSLOCATION

Les études expérimentales ont montré que la taille des particules influence leur probabilité de translocation vers des compartiments extra-pulmonaires tels que les ganglions lymphatiques associés aux poumons, le sang, le foie, la rate, l'encéphale ou les reins [12]. Ainsi, chez le rat, la translocation des alvéoles vers la circulation sanguine, le foie, la rate, les reins, le cœur et le cerveau serait comprise entre 0,1-1 %, 24 h après l'inhalation (1 h) par voie endotrachéale de nano-agrégats de carbone radio-marqués à l'iridium 192 (¹⁹²Ir) (20-80 nm) [13]. Ce pourcentage pourrait être considéré comme un maximum car ces particules, produites en laboratoire, étaient massivement nanométriques. La translocation des nanomatériaux (NM) après instillation intratrachéale, intranasale et aspiration pharyngée est plus élevée que par inhalation et pourrait être la conséquence du débit de dose, la même quantité étant déposée en quelques secondes par instillation et plusieurs jours par inhalation. Selon la revue générale de Kermanzadeh et al. [14], les données actuelles indiquent que l'exposition par inhalation est associée à une translocation faible pour les NM pratiquement insolubles comme l'iridium, le NC, l'or et le polystyrène (0,0001 à 1 % de la dose totale sur 24 h chez la souris).

Chez l'homme, les études d'exposition contrôlées indiquent que la fraction de nanoparticules transloquées serait inférieure à 1 % en masse de la dose délivrée aux poumons [15]. À titre d'exemple, dans l'étude d'exposition contrôlée chez

1. Dae (diamètre aérodynamique équivalent) : diamètre d'une particule sphérique et de densité 1 g/cm³, ayant la même vitesse de chute dans l'air que la particule concernée.

↓ Tableau III

➤ STATISTIQUES RÉSUMÉES DES DONNÉES DE CONCENTRATIONS ATMOSPHÉRIQUES EN NOIR DE CARBONE (NC) CONTENUES DANS LA BASE DE DONNÉES COLCHIC (1994-2018) EN FONCTION DE LA TÂCHE (lorsque le nombre de mesures est inférieur à 10, seuls le minimum et le maximum sont renseignés).

Tâche (nom)	Effectif total (2013B)	Moyenne	Médiane	Ecart-type	Minimum	Maximum	1 ^{er} quartile	3 ^e quartile
TOTAL	266 (217)	1,56	0,60	3,37	0,01	33,73	0,15	1,56
Conduite et surveillance d'installations d'ensachage	47 (44)	2,93	0,92	6,50	0,01	33,73	0,35	2,35
Ensachage (y compris le conditionnement en caisses, <i>big-bags</i> ...)	13 (13)	1,97	1,63	1,30	0,52	4,41	1,19	2,97
Ensachage manuel	4 (4)				0,06	0,22		
Magasinage manuel (chargement, déchargement, empilage...)	20 (20)	1,78	0,73	2,39	0,13	9,09	0,19	2,07
Opérations de chargement/déchargement de silos et trémies	137 (136)	1,11	0,45	1,75	0,09	10,80	0,12	1,30
Chargement, déchargement (silos/trémies, <i>big-bags</i> ...)	5 *				0,15	3,40		
Conduite et surveillance de machines d'impression offset et imprimeries autres tâches n.c.a	8				0,01	3,20		
Conduite et surveillance de mélangeurs	9				0,11	3,00		
Dépose de matériaux ou de produits isolants	3				0,04	0,04		
Opérations de dépotage (camions, citernes, wagons, bateaux...)	3				1,42	18,08		
Application par pulvérisation pneumatique	2				0,52	2,17		
Conduite et surveillance d'installations de broyage et de tri	1				0,39	0,39		
Pesage, dosage manuel	1				0,66	0,66		
Autres travaux de préparation mécanique des surfaces	4				0,02	0,10		
Réparation, maintenance, contrôle sur site	1				2,07	2,07		
Travail dans des locaux à pollution non spécifique (bureaux, salles de réunion)	1				0,25	0,25		
Travaux particuliers : autres tâches non codifiées par ailleurs	5				0,10	7,10		
Usinage par déformation de la matière : presses à forger, estampage, roulage, cintrage, étirage, pliage...	2				0,31	1,01		

* À partir de cet item, les activités n'étant pas dans le code NAF 2013B, il n'y a aucune mesure pour ce dernier.

↓ Tableau IV

➤ PRINCIPALES CARACTÉRISTIQUES DES NOIRS DE CARBONE COMMERCIALISÉS ET AYANT FAIT L'OBJET D'ÉTUDES CITÉES DANS L'ARTICLE

Nom commercial	Type de noir de carbone	Diamètre moyen des particules primaires (nm)	Surface spécifique (m ² /g)
Printex® 90	Noir de fourneau	12 à 16	254 à 337
Huber® 990	Noir thermique	260	8
Monarch® 880	Noir de fourneau	16	220
Elftex® 12	Noir de fourneau	37	43
Flamruss® 101	Noir de fumée	95	20

Noir de carbone nanostructuré : vers une valeur limite d'exposition professionnelle

l'homme, de Wiebert et al. [16] : la clairance pulmonaire et la translocation vers la circulation sanguine de particules de carbone de 35 nm radiomarquées au technétium 99 métastable (^{99m}Tc) ont été suivies pendant 24h chez 15 sujets (neuf en bonne santé et quatre asthmatiques). Aucune différence significative n'a pu être objectivée entre les sujets sains et asthmatiques. La rétention de particules après 24h était supérieure à 95 % et la translocation inférieure à 1 %.

Les données actuelles précisent donc qu'après inhalation, la translocation de particules virtuellement insolubles telles que le NC est faible mais pourrait s'avérer significative en cas d'exposition chronique (risque d'accumulation dans certains organes) ou d'inflammation. En effet, les preuves expérimentales disponibles indiquent que la translocation systémique ne se produit pas de manière appréciable à des niveaux d'exposition non inflammatoires [17]. La littérature recense différents effets toxicologiques après translocation pulmonaire des nanoparticules : stress oxydatif, inflammation, cytotoxicité et dysfonctionnement des processus cellulaires et physiologiques.

MÉCANISME DE TOXICITÉ

Le Centre international de recherche sur le cancer (CIRC) [1] a noté que l'exposition prolongée aux particules inhalées à des concentrations suffisamment élevées chez l'animal pouvait altérer des mécanismes de clairance normale dans la région alvéolaire du poumon, entraînant une accumulation continue de particules, des charges pulmonaires excessives et une inflammation alvéolaire. Cette réponse inflammatoire peut donner lieu à une augmentation de la génération d'espèces réactives d'oxygène, des

lésions cellulaires, une prolifération cellulaire, une fibrose, l'induction de mutations et le cancer. Étant donné que nombre de ces étapes se produisent également chez les travailleurs dans des environnements empoisonnés, les données sur le cancer chez les animaux dont la clairance alvéolaire est altérée ont été considérées comme pertinentes pour les humains. En outre, une diminution de la clairance pulmonaire chez les rongeurs exposés à des particules ultrafines se produit à des concentrations de masse beaucoup plus faibles qu'avec des particules fines, ce qui ajoute à la pertinence humaine.

Gallagher et al. [18] ont exposé des rats Fischer 344 par inhalation sub-chronique (6 h/j, 5 j/sem, 13 sem) à du Printex[®] 90 (1, 7 ou 50 mg/m³ ; 16 nm, surface spécifique 300 m²/g). Les résultats de cette étude corroborent l'hypothèse de mécanisme concernant les particules ultrafines de faible toxicité selon laquelle les dommages oxydatifs de l'ADN dans les poumons de rat pourraient jouer un rôle dans l'effet tumorigène, en raison notamment de leur importante surface spécifique et non de la masse des particules. La cancérogenèse induite chez le rat par les particules nanostructurées de faible toxicité présenterait ainsi un mécanisme en partie comparable à celui identifié pour les particules fines de faible toxicité mais pour une exposition totale plus faible.

Dans l'étude de Gilmour et al. [19], des rats Wistar mâles ont été exposés pendant 7 h par inhalation au NC fin (1,40 mg/m³ ; Huber[®] 990, 260 nm, diamètre médian en nombre (DMN) 268 nm) ou ultrafin (1,66 mg/m³ ; NC P90, 14 nm, DMN 114 nm). La concentration en nombre des particules du P90 était plus de 10 fois supérieure à celle du Huber[®]. Les données ont été re-

cueillies immédiatement, 16 et 48h après l'exposition. Le P90 ultrafin a provoqué une augmentation du nombre total de leucocytes dans le liquide de lavage bronchoalvéolaire (LLBA). Ainsi, une exposition unique de 7 heures, qui entraînerait selon les auteurs un dépôt de seulement 3,9 µg dans le poumon profond, était responsable d'une inflammation pulmonaire modeste mais détectable, contrairement à une exposition similaire au NC fin. Une leucocytose sanguine a également été détectée chez les rats exposés au P90, suggérant qu'une inflammation locale stimulait la libération de granulocytes par la moelle osseuse.

Par instillation intratrachéale, Chen et al. [20] ont exposé des souris C57BL/6 à 20 µg de NC ultrafin (7-12 nm, agglomérats moyen 190 nm). La très grande surface spécifique (800 m²/g) induisant une forte inflammation confirme l'importance du paramètre surface dans l'évaluation du potentiel inflammatoire des particules nanostructurées. Selon les résultats de cette étude, les macrophages alvéolaires ne seraient pas impliqués dans l'initiation de la réponse inflammatoire alors que les cellules épithéliales alvéolaires de type II (A₂II), qui induisaient une forte et précoce expression de cytokines inflammatoires (chimioattractants neutrophiles), pourraient au contraire être le moteur de l'inflammation neutrophile aiguë lors d'une exposition pulmonaire au NC ultrafin.

La charge pulmonaire exprimée en fonction de la surface des particules instillées semble être ainsi un indicateur commun pour le seuil de surcharge susceptible d'être généralisé aux particules de faible toxicité [21].

En résumé, selon Carter et al. [22], le modèle de réponse génotoxique indirecte survient à des niveaux

d'exposition générant une inflammation chronique. L'effet résultant est un environnement favorable aux transformations néoplasiques, à la progression de la fibrose et la formation de tumeurs. Aux niveaux inférieurs à ceux générant l'inflammation, aucun risque ne devrait être anticipé selon ce modèle mécanistique.

TOXICITÉ

Chez les rongeurs, les réponses pulmonaires indésirables au NC inhalé sont de type effet-dose et comprennent une inflammation, une lésion des cellules épithéliales pulmonaires et des lésions pulmonaires plus sévères et prolongées chez les rats comparativement aux souris et hamsters. La génotoxicité directe du NC a été évaluée et s'est révélée négative dans la plupart des tests de mutagenicité *in vitro* ou *in vivo* [1]. Chez le rat, contrairement aux deux autres espèces de rongeurs, un effet cancérigène est observé, qui serait lié au dépassement du seuil de surcharge pulmonaire [1].

TOXICITÉ À DOSES RÉPÉTÉES CHEZ L'ANIMAL

Les effets d'une exposition subaiguë par inhalation de NC (50-100 nm, 37 m²/g, diamètre médian aérodynamique en masse (DMAM) 0,6-0,9 µm) chez le rat ont été étudiés par Ma-Hock et al. [23]. Onze rats/groupe ont été exposés 6 h/j pendant 5 j (de J₀ à J₄) à 0,5, 2,5 ou 10 mg/m³. Aucun effet n'a été constaté à ces trois concentrations à la fin de l'exposition et jusqu'à 3 semaines de récupération post-exposition.

Lim et al. [24] ont déterminé une concentration maximale sans effet néfaste observable (NOAEL)

subchronique chez le rat sur la base d'une inhalation de P90 sur 4 semaines (6 h/j, 5 j/sem) de 2,87±0,68 mg/m³ sur la base de l'absence de réaction inflammatoire. Le DMAM était compris entre 0,3 et 0,5 µm, sans indication de la surface spécifique.

Antérieurement, Elder et al. [9] avaient estimé un NOAEL subchronique à 1 mg/m³ pour les rats, souris et hamsters après une exposition de 13 semaines (6 h/j, 5 j/sem) à du P90 (surface spécifique estimée à 300 m²/g) : aucune variation morphologique ou inflammatoire n'était observée. Les concentrations 7 et 50 mg/m³ induisaient des altérations pathologiques du poumon chez les souris et les rats persistantes au bout de la période de récupération, 11 mois après l'exposition. Ce NOAEL confirmait celui de Driscoll et al. [25] obtenu avec un autre NC de fourneau (Monarch® 880 ; 16 nm ; DMAM 0,88 µm, *Geometric Standard Deviation* – GSD – 3,3; 220 m²/g) à 0,1, 1,7, 10 ou 52,8 mg/m³. Ils ont estimé que l'inhalation subchronique (6 h/j, 5 j/sem, 13 sem) suivie d'une période de récupération de 3 et 8 mois chez le rat à 1,1 mg/m³ en NC n'avait entraîné aucun effet indésirable (inflammation, histologie, mutation, clairance) détectable sur les poumons, d'où leur proposition de NOAEL pour cette exposition.

En ce qui concerne la toxicité chronique pour les effets non cancérigènes, les travaux de Nikula et al. [26] ont consisté à exposer des rats des deux sexes durant 24 mois, 16 h/jour, 5 j/sem à du NC ultrafin (Elftex®12 *furnace black*, 37 nm, 43 m²/g) à 2,5 ou 6,5 mg/m³. Les auteurs ont observé les réponses morphologiques non néoplasiques suivantes : hyperplasie des macrophages alvéolaires, hyperplasie épithéliale alvéolaire, inflammation chronique, fibrose septale,

protéïnose alvéolaire, métaplasie alvéolaire, fibrose focale avec hyperplasie épithéliale alvéolaire, métaplasie squameuse et kystes squameux. Des lésions pulmonaires graves survenaient pour les deux sexes à 2,5 et 6,5 mg/m³.

SENSIBILISATION

Le Comité scientifique européen pour la sécurité du consommateur (CSSC) [27] a estimé qu'il était difficile de conclure à partir des tests de sensibilisation cutanée vu la faible probabilité que les particules de NC aient pénétré la peau pour atteindre les cibles cellulaires du système immunitaire. Le potentiel de sensibilisation du NC ne peut donc pas être exclu, notamment dans les cas de peau endommagée.

Lindner et al. [28], après des études réalisées chez la souris sensibilisée à l'ovalbumine (OVA) montrant que le P90 était susceptible d'aggraver l'inflammation respiratoire allergique et l'hyperréactivité bronchique, ont testé un modèle de provocation par instillation intra-trachéale de NC sur souris sensibilisée aussi à l'OVA. Deux administrations de 70 µg de NC ultrafin (P90) n'ont pas aggravé de manière aiguë l'inflammation allergique établie des voies respiratoires chez la souris (nombre de cellules ou profils de chémokines ou cytokines dans le LLBA).

GÉNOTOXICITÉ

Selon le CIRC [1], les études de génotoxicité primaire (altération génétique, en l'absence d'inflammation) se sont révélées essentiellement négatives dans nombre de tests et le mécanisme le plus probable relève d'une génotoxicité secondaire résultant de l'attaque oxydative de l'ADN par les espèces réactives de l'oxygène ou de l'azote générées au cours d'une

Noir de carbone nanostructuré : vers une valeur limite d'exposition professionnelle

inflammation provoquée par des particules.

Il est habituellement considéré que la génotoxicité secondaire implique un seuil dont la valeur est estimée par le niveau d'exposition qui déclenche l'inflammation et surcharge les capacités antioxydantes et de réparation de l'ADN dans les poumons.

À titre d'exemple, l'étude sub-chronique par inhalation menée par Carter et al. [22] concluait sur l'absence d'augmentation de la fréquence de mutations (test Hprt des cellules du LLBA de rats, de souris et de hamsters exposés à 1 mg/m³, NOAEL basé sur l'absence d'inflammation pulmonaire) contrairement à l'exposition à 7 mg/m³. Des études ont aussi été réalisées par instillation intratrachéale démontrant des cassures de l'ADN des cellules du LLBA mais à des doses déclenchant un processus inflammatoire [29]. Par ailleurs, du P90 administré par aspiration pharyngée (162 µg/souris) pouvait induire des dommages à l'ADN au niveau hépatique ; ces effets ont été associés à la capacité du Printex® d'induire des espèces réactives de l'oxygène.

CANCÉROGÉNÉCITÉ

Le CIRC [1] estime que les études de cancérogénicité *in vivo* chez le rat confirment l'hypothèse selon laquelle la génotoxicité secondaire du NC serait basée sur un mécanisme de surcharge conduisant à la génération d'espèces réactives de l'oxygène à partir de cellules inflammatoires infiltrées, à l'oxydation de bases d'ADN, à des cassures de l'ADN, à une peroxydation lipidique, à la sécrétion de médiateurs inflammatoires (classement en 2B, « *L'agent est peut-être cancérogène pour l'homme* »). Lorsque le seuil de surcharge pulmonaire est dépassé, une inflammation chronique s'ins-

talle et les rats développent des tumeurs pulmonaires.

À titre d'exemple, le NC Elftex®12 (43 m²/g) a été administré chez le rat par inhalation chronique à 0, 2,5 ou 6,5 mg/m³ (16 h/j, 5 j/sem, 24 mois). Des augmentations significatives de l'incidence des adénomes et adénocarcinomes pulmonaires ont été observées à 2,5 et 6,5 mg/m³ chez les femelles et particulièrement à la plus forte concentration ; aucune augmentation tumorale significative n'a été constatée chez les rats mâles [26]. Les auteurs estimaient une concentration minimale avec effet (LOAEC) chez les rats des deux sexes à 2,5 mg/m³ basée sur les données d'histopathologie. Il est très vraisemblable qu'à la concentration 6,5 mg/m³, les rats aient été en surcharge pulmonaire : le CIRC [1] considérait qu'une exposition à 7,1 mg/m³ pendant seulement 13 semaines induisait une altération de la clairance pulmonaire.

La cancérogénicité pulmonaire du NC a été testée chez le rat et la souris, par inhalation et par voie intratrachéale. Le CSSC [27] et le CIRC [1] estiment que le NC peut provoquer des tumeurs malignes chez les rats après une exposition par inhalation ou instillations intratrachéales. Le CSSC [27] note que les études par instillation sont souvent positives du fait de forts dosages administrés aux animaux et ne peuvent pas être utilisées pour la caractérisation quantitative des risques liés à l'exposition humaine par inhalation ; cependant, ces études fournissent des informations sur la capacité des nanoparticules de NC à induire des tumeurs. Les données issues des études de cancérogénicité chez l'animal ne permettent pas de préciser une concentration seuil sans effet néfaste observable (NOAEC).

TOXICITÉ POUR LA REPRODUCTION

D'après les résultats des études expérimentales sur les nanoparticules (NP) insolubles, la translocation des NP déposées dans les poumons vers la circulation systémique est faible (< 1 % pour le NC) et la majorité des NP transférées s'accumulent dans des organes cibles secondaires tels que le foie, la rate et le placenta. Des études montrent que la translocation des NP insolubles à travers le placenta est très faible (0,005 à 0,018 %), d'où un transfert des particules très limitée vers le fœtus [30]. Ainsi, l'exposition maternelle au NC peut potentiellement affecter le développement du fœtus, aussi bien directement qu'indirectement. La fertilité chez les femelles n'a été abordée dans aucune étude [27].

La revue générale d'Ema et al. [31] fait état d'une atteinte de la spermatogénèse chez des souris adultes après instillation intratrachéale de P90 et Flammruss® 101. Cette même publication rapporte, également dans cette espèce, des effets sur le développement de la descendance touchant plusieurs organes ou fonctions dont le système immunitaire, le cerveau, le testicule et le rein. Des effets génotoxiques et sur le comportement sont notamment rapportés. L'exposition maternelle aux particules peut avoir des effets sur les lignées germinales des générations suivantes, avec une sensibilité différente selon qu'il s'agit de mâles ou de femelles. En particulier, dans plusieurs études réalisées par instillation intratrachéale chez des souris gestantes, les petits mâles présentaient une diminution de la production journalière de sperme et des modifications histopathologiques testiculaires (vacuolisation des tubes séminifères et diminu-

tion de l'adhérence cellulaire de l'épithélium séminifère). Pour certains de ces travaux, des informations insuffisantes étaient fournies sur la toxicité maternelle or celle-ci est classiquement susceptible de provoquer des effets sur la descendance.

Ces résultats n'ont cependant pas été confirmés par Skovmand et al. [30, 32]. La publication de 2018 (instillation intratrachéale avec du P90 ou du Flammruss® 101 ; 1x100 µg/sem, 7 semaines consécutives) montre qu'en dépit d'une réponse inflammatoire pulmonaire prolongée, cette exposition n'a pas affecté la production quotidienne de sperme ni la concentration de testostérone chez les souris mâles adultes exposées. La publication de 2019 n'a pas objectivé l'apparition des effets transgénérationnels de la 1^{re} à la 4^e génération (F1 à F4) sur la fonction de reproduction des mâles, provenant de souris femelles (Fo) exposées par inhalation corps entier à 4,6 et 37 mg/m³ de P90, 45 min/jour entre les 4^e et 18^e jours de la gestation. Aucune inflammation pulmonaire ni réponse aiguë en termes d'afflux de neutrophiles n'a été constatée chez les mères ni aucun changement significatif dans aucune des quatre générations de la lignée germinale mâle ou dans la 2^e génération provenant de la lignée germinale femelle. Bien que les résultats obtenus par inhalation soient rassurants, il serait prématuré de conclure, en termes de transposition à l'homme, que l'exposition aux particules de carbone ne présente aucun risque pour la reproduction masculine.

Dans l'étude de Umezawa et al. [33], des souris femelles ont été exposées par inhalation à un aérosol de P90 (14 nm, 182 à 338 m²/g), 45 min/jour à 0,46 ou 37 mg/m³ de P90 du 4^e au 18^e jour de gestation.

Chez les mâles de 6 semaines, a été constatée une altération dose-dépendante des macrophages périvasculaires cérébraux et des astrocytes. Lors du test en champ libre (*open field*), le comportement a été modifié à l'âge de 90 jours ; les auteurs remarquent que certains des effets observés présentent des similitudes frappantes avec ceux décrits dans des modèles murins de troubles du développement neurologique. L'absence de mesure pendant l'exposition ou immédiatement à la fin des expositions n'exclut pas une inflammation pulmonaire maternelle lors de la gestation, contribuant aux effets constatés chez leur descendance.

EFFETS CARDIOVASCULAIRES

Les effets des nanoparticules sur le système cardiovasculaire sont peu compris. Chez l'homme et l'animal de laboratoire, les particules inhalées induisent localement une réponse inflammatoire pulmonaire menant à la libération de médiateurs pro-inflammatoires et/ou pro-thrombotiques dans la circulation [34]. En raison de leur taille, certaines nanoparticules pourraient également passer la barrière alvéolo-capillaire puis affecter l'homéostasie et l'intégrité cardiovasculaire en interagissant avec des cellules ou des macromolécules de la circulation sanguine ou d'organes secondaires [13]. Chez la souris, en accord avec des travaux antérieurs, Ganguly et al. [35] ont estimé que les effets cardiovasculaires observés après une inhalation de 4 ou 24h d'un aérosol très massivement nanométrique de NC (0,44 mg/m³ ; 800 m²/g ; décharge d'étincelle) seraient plus la conséquence d'une réponse inflammatoire pulmonaire que d'une translocation des particules. L'exposition de souris par instillation endotrachéale à des nanoparticules de NC

conduisait à une accélération de la formation de plaques d'athérome chez des animaux déficients pour l'Apolipoprotéine E [36].

EFFETS CHEZ L'HOMME

Des symptômes respiratoires et une altération de la fonction pulmonaire, associés à une augmentation des marqueurs circulants de l'inflammation ont été mis en évidence dans les études épidémiologiques. Dans les études les plus anciennes où les travailleurs étaient exposés aux niveaux les plus importants, des tableaux de pneumoconioses ont été observés. Les données épidémiologiques, analysées dans leur ensemble, ne sont pas suffisamment probantes pour conclure à la cancérogénicité du noir de carbone inhalé chez l'homme. Des modifications réversibles des paramètres de l'inflammation pulmonaire et systémique, ainsi que de certains paramètres cardiovasculaires, ont été observées à faible dose dans le cadre d'expositions contrôlées de courte durée.

DONNÉES D'EXPOSITION DANS LES ÉTUDES EXPERTISÉES PAR LE CIRC [1]

Les expositions au NC indiquées dans les études expertisées par le CIRC [1] variaient considérablement d'une installation de production à l'autre et au fil du temps. Aucune donnée disponible ne permettait de caractériser ou de quantifier l'exposition aux particules primaires ultrafines. Les emballeurs et les nettoyeurs de sites subissaient les niveaux d'exposition les plus élevés. Certaines études antérieures à 1970 ont révélé que le secteur de la fabrication aurait pu être exposé à

Noir de carbone nanostructuré : vers une valeur limite d'exposition professionnelle

des niveaux extrêmement élevés d'exposition au NC. Des études réalisées dans cette industrie aux États-Unis et en Europe occidentale après la fin des années 1970 ont montré que l'exposition moyenne géométrique personnelle à la poussière inhalable était inférieure à 5 mg/m³. Vers le milieu des années 90, les niveaux géométriques moyens de poussières inhalables et respirables étaient respectivement inférieurs à 2 mg/m³ et 0,5 mg/m³. L'exposition dans les industries utilisatrices est difficile à évaluer en raison du manque de données et de l'exposition concomitante à de nombreuses autres particules, mais les niveaux d'exposition sont supposés être plus faibles, à l'exception peut-être des travailleurs qui manipulaient du NC. L'exposition au NC ne se produit pas lors de l'utilisation de produits dans lesquels le NC est lié à d'autres matériaux, tels que le caoutchouc, les encres d'imprimerie ou les peintures.

EFFETS RESPIRATOIRES HORS CANCERS

Parmi les effets respiratoires non cancérogènes chez les travailleurs expertisés par le CIRC [1] figurent la toux, la production d'expectorations, la bronchite, les opacités radiographiques thoraciques (par exemple, la pneumoconiose) et la diminution de la fonction pulmonaire. Les asthmatiques présentaient un dépôt total plus élevé de particules de carbone ultrafines dans les voies respiratoires par rapport aux individus en bonne santé. La quantité de NC déposée peut également croître avec l'augmentation du volume minute, par exemple chez les personnes qui font de l'exercice ou lors de lourdes charges de travail. Des charges pulmonaires massives et une diminution de la clairance pulmo-

naire ont été observées chez les mineurs.

Plus récemment, l'étude chinoise de Zhang et al. [37] a été réalisée chez 81 travailleurs employés depuis au moins 1 an (en moyenne 12,5 ans) dans un atelier de conditionnement de NC, afin d'évaluer les effets du NC ultrafin (taille des particules unitaires comprise entre 30 et 50 nm ; 50,8 % des particules inférieures à 523 nm et 96,7 % inférieures à 1 µm) sur la fonction pulmonaire, comparativement à un groupe de 104 travailleurs non exposés, issus d'une autre entreprise de la ville. Chez les sujets exposés, le niveau d'exposition moyen évalué en fraction inhalable à l'aide de prélèvements individuels chez 15 volontaires était de 14,9 mg/m³. Tous les sujets du groupe exposé présentaient une toux et/ou une expectoration chronique sans anomalie particulière sur les radiographies de thorax standards. Après ajustement sur l'âge, l'index de masse corporelle, le statut tabagique et la consommation de boissons alcoolisées, une altération significative de différents paramètres fonctionnels respiratoires, en faveur d'une obstruction bronchique, a été mise en évidence chez les travailleurs exposés au NC, comparativement aux sujets du groupe témoin. Ces altérations fonctionnelles étaient associées à des modifications des taux sériques de diverses cytokines pro-inflammatoires (IL-1β, IL-6, IL-8, MIP-1β, TNF-α).

L'actualisation de cette étude par Yang et al. [38] et son extension à 99 travailleurs exposés (médiane 9 ans) et 115 non exposés ont permis de mettre en évidence, après ajustement sur l'âge, l'index de masse corporelle, le statut tabagique et la consommation de boissons alcoolisées, une altération significative de différents paramètres fonctionnels respiratoires en faveur d'une

obstruction des petites voies aériennes chez les travailleurs exposés au NC comparativement aux sujets du groupe témoin [38]. Ces altérations fonctionnelles étaient associées à des modifications des taux sériques de 2 biomarqueurs précoces de toxicité pulmonaire : une diminution des taux de protéine CC16 et une augmentation des taux de protéine SP-A.

Une étude transversale iranienne a été réalisée chez 72 travailleurs exposés ou ayant été exposés au NC dans une entreprise fabriquant des pneus et des chambres à air, et 69 employés de bureau en bonne santé, non exposés et sélectionnés au hasard [39]. Les niveaux d'exposition aux poussières de NC inhalables et respirables ont été estimés à 6,2 ± 1,75 mg/m³ et 2,3 ± 0,29 mg/m³ respectivement (moyenne ± écart-type). Les symptômes respiratoires tels que toux régulière, expectorations, respiration sifflante et essoufflement étaient significativement plus fréquents chez les travailleurs exposés. En outre, des diminutions significatives de certains paramètres de la fonction pulmonaire, évocatrices d'un trouble ventilatoire restrictif, étaient observées entre le début et la fin du poste de travail chez les travailleurs exposés.

CANCÉROGÉNÉCITÉ

Dans sa dernière évaluation datant de 2010, le CIRC a classé les NC dans le groupe 2B, peut-être cancérogènes pour l'homme, en raison de preuves suffisantes de cancérogénicité chez l'animal, mais inadéquates chez l'homme [1]. Chez l'homme, les données les plus informatives sont celles qui sont issues des études de cohortes réalisées dans le secteur de la production de noir de carbone en Allemagne, au Royaume-Uni et aux États-Unis. Les deux études menées en Allemagne

et au Royaume-Uni ont révélé un risque excédentaire par rapport aux références externes. La confusion causée par le tabagisme ne pouvait être exclue, même s'il était peu probable qu'elle explique tout le risque excédentaire. Cependant, dans les deux cohortes, les analyses internes par niveau d'exposition au NC ont donné des résultats équivoques mais principalement nuls. L'étude sur les travailleurs du NC aux États-Unis n'a suggéré aucune surmortalité, mais n'a pas évalué le risque en fonction du niveau d'exposition. Dans les études évaluant les risques de cancer du poumon parmi les industries utilisatrices, l'étude la plus informative sur les travailleurs allemands de l'industrie du caoutchouc a montré des signes d'excès de risque qui ont disparu avec l'ajustement sur l'amiante et le talc, dans l'analyse. Parmi les études restantes, deux autres ont montré des excès non significatifs (cohorte de salariés exposés au formaldéhyde aux États-Unis et étude cas-témoins basée sur une communauté canadienne) et une ne présentait aucun risque excessif de cancer du poumon lié à la manipulation du NC (dockers italiens). Pour les cancers de la vessie, des reins, de l'estomac et de l'œsophage, des résultats isolés indiquent des risques excédentaires, mais ils ne sont pas suffisants pour appuyer une évaluation de la cancérogénicité chez l'homme. Il n'existe aucune preuve d'un effet du NC sur d'autres cancers. En conclusion, deux des trois études sur les travailleurs de la production de NC ont observé un excès de risque de cancer du poumon et d'autres études ont fourni des preuves mitigées d'un risque accru de cancer du poumon et d'autres cancers. Les quelques études ayant évalué une relation dose-réponse, y compris les deux études ayant ob-

servé des risques excessifs par rapport à la population générale, ont fourni des preuves faibles ou peu concluantes. Globalement, le CIRC [1] a considéré que les résultats épidémiologiques étaient incohérents et ne permettaient pas de déterminer de manière suffisante si le NC était cancérogène chez l'homme. Plusieurs autres études sur la cancérogénicité du noir de carbone ont été publiées postérieurement au rapport du CIRC [1]. Une nouvelle analyse statistique des données issues des études cas-témoins québécoises réalisées dans la population de Montréal, portant uniquement sur le risque de cancer du poumon, ne retrouve pas d'excès de risque statistiquement significatif de cancer du poumon en relation avec les expositions au NC [40]. Une méta-analyse des études de mortalité réalisées dans le secteur de la production du NC en Allemagne, au Royaume-Uni et aux États-Unis n'a pas mis en évidence d'excès de risque significatif de cancers des appareils respiratoire et urinaire en lien avec les expositions au NC [41]. L'étude de mortalité américaine réalisée initialement sur une cohorte de 5 011 travailleurs employés dans 18 usines de production de NC [42] a été actualisée avec un suivi jusqu'en 2011, ce qui a conduit à une cohorte globale de 6 634 sujets. Une estimation de l'exposition individuelle cumulée a été réalisée à partir d'une matrice emploi-exposition. La relation entre l'exposition cumulée au NC (fraction inhalable) et la survenue d'un cancer du poumon a été analysée. Aucune surmortalité par cancer du poumon ou par maladie respiratoire non maligne n'a été mise en évidence. Par ailleurs, les auteurs considèrent les résultats en accord avec ceux des études réalisées au Royaume-Uni et en Allemagne, qui

ne montraient aucun profil cohérent d'augmentation du risque de cancer du poumon par rapport aux estimations de l'exposition au NC ou à la durée de l'emploi. Les estimations des risques relatifs (RR) par rapport à une population de référence (<20 mg.an/m³) étaient les suivants RR=1 [IC 95 % : 0,6-1,6] pour 20-50 mg.an/m³, RR=1,3 [IC 95 % : 0,8-2,1] pour 50-100 mg.an/m³, et RR=1,4 [IC 95 % : 0,9-2,1] pour 100 mg.an/m³ ou plus. Les auteurs concluent que les niveaux d'exposition (10 à 50 mg/m³) qui prévalaient dans l'industrie du NC aux États-Unis dans les années 1970-1990 ne sont pas associés au risque de cancer du poumon [43].

Pour pallier le manque d'évaluation quantitative des trois études sur les cohortes des salariés de l'industrie de production du NC, et surtout pour élargir la plage des niveaux d'exposition, Yong et al. [44] ont fait une méta-régression. Ils notent une augmentation du RR de 1,03 [IC 95 % : 0,96 – 1,10], non statistiquement significative, pour une augmentation de l'exposition de 10 mg.an/m³. Les analyses de sensibilité, incluant entre autres la prise en compte d'une latence de 20 ans avant l'apparition du cancer du poumon, ne modifient pas les estimations. Les auteurs concluent qu'un lien causal entre exposition au NC et cancer du poumon n'est pas confirmé par les observations sur les salariés des trois grandes cohortes (plus de 9 000 personnes sur plusieurs dizaines d'années).

AUTRES EFFETS

Une méta-analyse publiée en 2016, portant sur 3 cohortes de travailleurs exposés au NC dans le secteur de la production aux États-Unis, au Royaume-Uni et en Allemagne s'est intéressée à la mortalité cardiovasculaire. Aucun excès de risque statistiquement significatif

Noir de carbone nanostructuré : vers une valeur limite d'exposition professionnelle

de mortalité n'a été mis en évidence pour les 3 causes de décès considérées (maladies cardiaques, cardiopathies ischémiques, infarctus du myocarde) [45].

Une étude épidémiologique transversale réalisée en Chine chez 106 employés travaillant sur une chaîne de conditionnement d'une usine de production de NC (particules unitaires de 30 à 50 nm de diamètre associées à des agglomérats de 200 à 400 nm) et 112 sujets témoins non exposés appariés sur le sexe, l'âge et le statut tabagique. L'évaluation de l'exposition était réalisée à l'aide de prélèvements individuels sur les travailleurs. Chez les travailleurs employés sur la chaîne de conditionnement, les niveaux d'exposition aux particules dont le diamètre est inférieur à 2,5 µm (PM_{2,5}), carbone total et carbone élémentaire, étaient respectivement de 800, 696 et 657 µg/m³ (vs 71, 42 et 4 µg/m³ respectivement chez les témoins). Après ajustement sur le tabagisme, une augmentation statistiquement significative du taux d'éosinophiles circulants a été mise en évidence chez les sujets exposés comparativement aux sujets du groupe témoin [46].

ÉTUDES SUR LES PARTICULES DE CARBONE ULTRAFINES EN CONDITIONS EXPÉRIMENTALES CONTRÔLÉES

Plusieurs études ont été réalisées aux États-Unis par différentes équipes, consistant à évaluer les effets potentiels de l'inhalation de faibles doses de particules de carbone ultrafin chez des sujets sains, asthmatiques ou diabétiques.

Une série de 4 études randomisées en double aveugle a été réalisée par une même équipe, afin d'évaluer l'effet d'un aérosol de particules de carbone ultrafin sur la fonction et l'inflammation pulmonaires [47].

Chaque sujet, sain ou légèrement asthmatique, a été exposé à de l'air filtré et à un aérosol de carbone ultrafin (diamètre médian en nombre = 23 - 28 nm) pendant 2 heures avec 2 à 3 semaines de repos entre deux séances d'exposition. Les sujets sains ont été exposés à 10, 25 et 50 µg/m³ et les asthmatiques à 10 µg/m³. Aucune différence n'a été montrée chez les sujets sains ou asthmatiques exposés à 10 ou 25 µg/m³ pour les paramètres de la fonction pulmonaire ou d'inflammation des voies respiratoires. En revanche, les auteurs ont observé, 21 heures après l'exposition de sujets sains à la plus haute concentration de 50 µg/m³, une réduction du débit expiratoire maximal médian (témoin d'une légère résistance des petites voies aériennes) et de la capacité de diffusion du monoxyde de carbone. Ces réductions étaient temporaires et réversibles, puisqu'elles n'étaient plus observées lors des tests effectués 45 heures après l'exposition.

Une autre étude en conditions d'exposition contrôlée a été réalisée chez des volontaires sains et des sujets asthmatiques afin d'évaluer l'impact de l'inhalation de particules de carbone élémentaire ultrafines en termes d'inflammations pulmonaire et systémique [48]. Le protocole de l'étude consistait à exposer 12 volontaires sains au repos à de l'air ou à 10 µg/m³ de particules de carbone ultrafines, 12 volontaires sains pendant un exercice physique à de l'air ou à 10 et 25 µg/m³ de particules de carbone ultrafines et enfin, 16 volontaires asthmatiques pendant un exercice physique à de l'air ou à 10 µg/m³ de particules de carbone ultrafines. La durée de chaque exposition était de 2 heures et l'intervalle entre chaque exposition de 2 à 3 semaines. Aucun effet significatif n'a été observé au repos chez les sujets sains. À l'effort, chez les

sujets sains ayant inhalé 25 µg/m³ de particules de carbone ultrafines, une baisse du taux de monocytes et une activation des lymphocytes T, une réduction dose-dépendante de l'expression de la molécule d'adhésion ICAM-1 sur les monocytes, ainsi qu'une réduction transitoire du tonus parasympathique et des troubles de la repolarisation à l'électrocardiogramme étaient constatés. Chez les sujets asthmatiques, l'inhalation de 10 µg/m³ de particules de carbone ultrafines était associée à une baisse des taux sanguins d'éosinophiles et de lymphocytes T CD4+, à une réduction de l'expression du *cluster* de différenciation CD11b sur les monocytes et les éosinophiles, à une baisse de l'expression de la molécule d'adhésion ICAM-1 sur les polynucléaires neutrophiles, ainsi qu'à une atteinte de la variabilité de la repolarisation à l'ECG. Aucun effet significatif n'était constaté en termes de symptomatologie, de fonction pulmonaire, de marqueurs d'inflammation des voies aériennes et de marqueurs solubles d'inflammation systémique et de coagulation. Une étude complémentaire a été réalisée par la même équipe selon un protocole comparable, à l'exception du fait qu'un groupe supplémentaire avait été ajouté, comprenant 16 sujets exposés lors d'un exercice intermittent à de l'air ou à 50 µg/m³ de particules de carbone ultrafines, afin d'évaluer l'impact de l'exposition aux particules de carbone ultrafines sur l'expression des molécules d'adhésion à la surface des leucocytes circulants [49]. Chez les sujets sains exposés à l'effort, une réduction de l'expression des molécules d'adhésion CD54 et CD18 était mise en évidence sur les monocytes ainsi que des molécules CD18 et CD49d sur les granulocytes. Il y avait également une réduction dose-dépendante des taux de monocytes, baso-

philes et éosinophiles, ainsi qu'une augmentation de l'expression du marqueur d'activation lymphocytaire CD25. Chez les asthmatiques, une réduction de l'expression des marqueurs CD11b sur les monocytes et les éosinophiles et CD54 sur les granulocytes était constatée, ainsi que des taux circulants de lymphocytes T CD4+, de basophiles et d'éosinophiles. Au total, l'inhalation de faibles doses de particules de carbone ultrafines modifie la distribution des leucocytes périphériques et altère l'expression des molécules d'adhésion.

Deux groupes de 12 volontaires sains et non-fumeurs (18 à 40 ans) ont été exposés à des particules de carbone ultrafines élémentaire (diamètre moyen de 25 nm) pendant 2 heures, au repos (12 sujets) ou à l'effort (12 sujets), afin de déterminer si l'exposition entraînait des modifications électrocardiographiques, en particulier en termes de variabilité du rythme cardiaque et de repolarisation. Aucun effet cardiaque significatif n'a été observé aux doses testées (10 µg/m³ au repos ; 10 et 25 µg/m³ à l'effort), bien que, pour certains sujets, il ait été observé une tendance à l'augmentation du tonus du système nerveux autonome parasympathique et des troubles de la repolarisation ventriculaire infracliniques [50].

Dix-neuf sujets atteints de diabète de type 2, non-fumeurs, ont été exposés pendant 2 heures, au repos, à de l'air et à une dose unique de 50 µg/m³ de particules de carbone ultrafines (diamètre moyen de 32 nm), afin d'évaluer les éventuels effets sur l'activation plaquettaire et sur l'endothélium vasculaire. L'exposition aux particules de carbone ultrafin était associée, 3,5 heures après la fin de l'exposition, à une élévation transitoire de l'expression du ligand CD40 sur les plaquettes et du nombre de conjugués leucocyte/

plaquette ainsi qu'à une diminution du taux de ligand CD40 soluble. Une augmentation du taux plasmatique de facteur Willbrand était également observée immédiatement après cessation de l'exposition [51]. Un ECG était également enregistré afin de déterminer si cette exposition avait un effet sur la fréquence et la variabilité du rythme cardiaque. L'exposition aux particules de carbone ultrafines était associée à une réduction significative de la variabilité du rythme cardiaque. À distance de l'exposition (21 à 45 heures post-exposition), la fréquence cardiaque était légèrement mais significativement plus élevée dans le cas de l'inhalation des particules de carbone ultrafines par rapport à l'inhalation d'air [52].

Les études en conditions expérimentales contrôlées montrent des modifications des paramètres de l'inflammation ainsi que cardiaques. Néanmoins il n'y a pas de relation dose-effet claire avec, parfois, des augmentations suivies de diminutions. Les effets les plus marqués ne sont pas observés avant 50 µg/m³ chez les personnes saines. Les expositions étant de courte durée, souvent 2 heures, il est difficile de savoir si les phénomènes observés sont à caractère adaptatif et transitoire ou représentent un effet qui, en devenant chronique, serait susceptible d'entraîner des états morbides.

MÉTROLOGIE

En hygiène industrielle, les méthodes conventionnelles d'évaluation de l'exposition par inhalation des salariés à des aérosols reposent sur la caractérisation de leur concentration massique dans l'air. Dans le cas d'aérosols contenant des particules nanostructurées,

une démarche plus spécifique doit être mise en place pour l'évaluation des expositions professionnelles [53]. Pour le NC, cette démarche doit également être adaptée au caractère ubiquitaire du carbone dans l'atmosphère.

Concernant le NC, la métrique actuellement basée sur la mesure de la concentration massique du carbone élémentaire reste la plus adaptée pour répondre au besoin d'une évaluation de l'exposition. Deux approches sont envisageables pour mesurer l'exposition aux NC :

- la mesure en différé, qui comporte une phase de collecte des particules dans l'air sur une durée définie, suivie d'une analyse *a posteriori* en laboratoire ;
- la mesure en temps réel à l'aide d'un dispositif qui va évaluer en continu la concentration dans l'air, dessiner un profil d'exposition permettant d'identifier d'éventuels pics d'exposition et intégrer la concentration sur la durée du prélèvement. Pour ces deux approches, les nanoaérosols de carbone étant susceptibles de se déposer majoritairement dans les alvéoles pulmonaires, ce sont, *a minima*, les dispositifs de prélèvement ciblant la fraction conventionnelle alvéolaire de l'aérosol qui sont utilisés.

MESURE EN DIFFÉRÉ

Les méthodes en différé ne sont utilisables que si l'atmosphère considérée est identifiée comme ne renfermant que des nanoaérosols de NC. Elles ne sont pas spécifiques des particules de taille nanométrique et/ou du carbone élémentaire constituant le NC mais aussi présent dans d'autres particules d'origines variées.

Pour les méthodes en différé, le prélèvement est réalisé dans la sphère respiratoire du salarié avec un dispositif de prélèvement, relié à une pompe régulée et fixée sur le salarié,

Noir de carbone nanostructuré : vers une valeur limite d'exposition professionnelle

apte à prélever la fraction alvéolaire de l'aérosol comme, par exemple, le sélecteur cyclonique, dit « cyclone », de type Dorr-Oliver, Higgins-Dewell, GK 2.69 ou tout autre dispositif [54]. Dans ce dispositif, les particules pénètrent de façon tangentielle pour subir un mouvement circulaire. Les grosses particules, de grande inertie, sont entraînées sur la périphérie interne du cyclone par la force centrifuge ; les fines particules, de plus faible inertie, s'éloignent moins de l'axe du cyclone et sont entraînées par un vortex ascendant vers une sortie axiale en partie supérieure du cyclone où elles sont collectées dans une cassette porte-filtre. La sensibilité de la méthode peut être notablement augmentée en utilisant un dispositif de prélèvement de la fraction alvéolaire fonctionnant à un débit élevé (> 4 L/min).

Pour l'analyse, si les nanoparticules de NC forment l'unique source d'exposition et qu'aucun autre aérosol n'est susceptible d'être présent, la gravimétrie peut être utilisée. Une membrane, généralement en PVC, disposée dans le porte-filtre des cyclones, collecte les particules ; la différence de masse entre la membrane pesée au laboratoire avant et après le prélèvement, rapportée au volume d'air prélevé, permet de calculer la concentration massique des particules [55].

Une autre méthode est utilisée par de nombreux organismes sur la base du dosage spécifique du carbone élémentaire [56, 57]. La collecte des particules, dans un cyclone ou sur le plateau d'un impacteur, est réalisée sur un filtre en fibre de quartz, préalablement décarboné par chauffage pendant 48h à haute température (> 450 °C). Après prélèvement, la masse de carbone dans les particules collectées est quantifiée à l'aide d'un analyseur spécifique du carbone, thermique ou thermo-optique. Le filtre de collecte

est porté à des paliers de température successifs jusqu'à 980 °C, sous une atmosphère inerte puis oxydante. Sous atmosphère inerte, le carbone élémentaire est thermiquement stable et seuls les composés organiques sont volatilisés, oxydés par catalyse en dioxyde de carbone et dosés en coulométrie ou après réduction en méthane par détection spectrométrique. Le carbone résiduel sur le filtre correspond au carbone élémentaire qui, à haute température et en présence d'oxygène, s'oxyde en dioxyde de carbone qui sera détecté et dosé. Par un suivi laser de la variation des propriétés optiques de la surface du filtre, la version thermo-optique de cet analyseur, postérieure à la version thermique, permet de différencier plus finement la fraction organique de la fraction élémentaire du carbone. Dans la mesure où les nanoparticules de NC sont essentiellement formées de carbone élémentaire ($[C_{\text{élé}}] > 97\%$) et ne contiennent que de faibles quantités de carbone organique, les méthodes thermique et thermo-optique peuvent être utilisées sans biais important.

MESURE EN TEMPS RÉEL

Combinant la détermination de la nature chimique de la particule et la mesure en temps réel, l'évaluation de l'exposition peut être menée avec un micro-aéthalomètre, appareil conçu pour la mesure de la concentration des particules de suies dans l'air. De petites dimensions, léger et autonome, le micro-aéthalomètre a été développé pour être porté dans la sphère respiratoire du salarié. Il renferme une pompe qui prélève l'atmosphère à un débit compris entre 50 et 150 mL/min et peut être équipé d'un mini cyclone dont le diamètre de coupure (correspondant à une probabilité de collecte de 50 %) de 2,5 µm échantillonne une fraction granulométrique proche

de la fraction alvéolaire. Le dosage repose sur la mesure de l'atténuation, due à l'absorption par les particules de carbone-suie collectées sur une membrane téflon, de l'intensité d'un faisceau infra-rouge à la longueur d'onde de 880 nm. Assez sélectif, il comptabilise l'ensemble des particules issues de combustions renfermant un noyau de carbone élémentaire. En théorie, la concentration en carbone-suie donnée par l'aéthalomètre n'est pas rigoureusement équivalente à la concentration en carbone élémentaire, les coefficients d'adsorption des deux substances diffèrent légèrement, mais les deux valeurs sont proches.

Ces méthodes, en différé ou en temps réel, gravimétrique ou de quantification du carbone élémentaire, ne sont fiables que si l'utilisateur s'est assuré de la nature nanométrique de l'aérosol carboné et du caractère mono-pollué de l'atmosphère. Il est primordial de distinguer l'aérosol cible, les nanoparticules de NC, des autres aérosols qui peuvent le masquer [58] :

- aérosols carbonés, nano ou micrométriques générés conjointement dans le procédé industriel, pour l'élaboration de matériaux composites, résines, agents de réticulation, huiles, élastomère, pigments... ;
- « aérosol de fond » provenant de sources anthropogéniques ou naturelles telles les particules fines d'émissions diesel, de chauffages domestiques...

En cas de doute, pour estimer les biais dus aux interférents, le *National Institute for Occupational Safety and Health* (NIOSH) préconise la réalisation de prélèvements en extérieur, pour évaluer le fond en particules carbonées, et dans un local non suspecté d'être pollué par les nanoparticules de NC mais proche de celui où évolue le salarié dont on désire évaluer l'exposition

[59]. D'autres techniques utilisées conjointement au prélèvement individuel peuvent aussi permettre de vérifier la nature et la taille des particules prélevées et ainsi conforter la qualité de l'évaluation réalisée. Ainsi, le prélèvement sur une grille dédiée à la microscopie électronique, combiné à des techniques de microanalyse ou de spectroscopie, doit permettre de contrôler la nature nanométrique des particules, l'homogénéité de la population et sa nature chimique [60].

Le **tableau V** regroupe les limites de quantification habituellement retenues pour les techniques évoquées. Ces valeurs sont indicatives et varient en fonction des paramètres inhérents au prélèvement et à l'analyse.

MESURES DE PRÉVENTION

Les mesures de prévention qui doivent être prises pour réduire l'exposition des salariés aux particules de NC sont de deux ordres : des moyens de protection collective et des moyens de protection individuelle. Comme indiqué dans l'article de Ling et al. [61] la combinaison de ces deux types de moyens de protection est à même de réduire très fortement l'exposition.

L'avancée des travaux de recherche sur les effets toxicologiques du NC ultrafin pointe la nécessité de réduire l'exposition des salariés par la mise en place de moyens de prévention. Dans le cas des nanoparticules, il est recommandé d'adopter le principe d'une double barrière de protection entre les nanoparticules et l'opérateur, la première barrière devant être placée au plus près de la source potentielle d'émission. La barrière peut être matérielle (conteneur, boîte à gants, réacteur fermé) ou immatérielle (confinement dynamique réalisé par une enceinte ventilée ou un captage inducteur) [62].

Les moyens de protection collective utiliseront, par ordre décroissant d'efficacité, les dispositifs de confinement, les systèmes de captage inducteurs et la ventilation des locaux (barrières de pression). Les dispositifs de ventilation comprendront un étage de filtration à très haute efficacité (filtre H14, selon NF EN 1822-1) situé au plus proche de la source pour éviter la contamination des équipements.

Plusieurs résultats de la littérature montrent que les enceintes de confinement et les dispositifs de captage ont une efficacité similaire lorsqu'ils sont utilisés pour maîtriser les émissions de gaz ou d'aérosols nanométriques [63]. Des équipements

permettant de confiner les procédés de production ou de manipulation des poudres nanométriques (sorbonnes, postes de sécurité cytotoxique, enceintes ventilées en dépression...) seront utilisés de préférence ; ceux-ci sont particulièrement bien adaptés aux installations de type laboratoire (de dimensions réduites). Pour les procédés industriels, des dispositifs de captage inducteur (anneaux aspirants pour le remplissage de sacs ou containers, dosserets aspirants, cabines ouvertes d'aspiration...) pourront aussi être utilisés ; certains dispositifs décrits dans le guide de ventilation « *Emploi de matériaux pulvérulents* » [64] sont transposables au cas des nanoparticules. Le degré de confinement des procédés devra être adapté à l'intensité des sources générées par la fabrication ou la manipulation de NC ainsi qu'aux valeurs limites retenues pour l'évaluation des risques [65 à 67].

Lorsque la double barrière de confinement n'est pas assurée, le port de protections individuelles peut s'avérer indispensable (par exemple lors des opérations de maintenance et de nettoyage). Il est recommandé de porter un appareil de protection respiratoire filtrant anti-aérosols (filtre de classe 3), à ventilation libre ou assistée en fonction de l'exposition attendue (concentration en nanoparticules, durée...), ainsi que des vêtements de protection contre le risque chimique de type 5 et des gants [62].

Le choix de l'appareil de protection respiratoire (APR) approprié doit se faire suite à une analyse des risques au poste de travail qui intègre le risque d'exposition au NC mais également les autres risques pouvant être présents simultanément au poste de travail (chaleur, bruit, autre polluant...). L'étape de choix du type de protection individuelle respiratoire repose sur l'estimation de la

↓ Tableau V

➤ LIMITES DE QUANTIFICATION POUR LES DIFFÉRENTS DISPOSITIFS ET TECHNIQUES UTILISÉS

Dispositif	Particules visées	Mode de détermination	Limite de quantification 8h de prélèvements
Cyclones (GK 2.69, Dorr-Oliver, Higgins-Dewell) Ø filtre 37 ou 25 mm	$\Phi_{a.e. \text{ moyen}} \leq 4 \mu\text{m}$	Gravimétrie	$\approx 25 \text{ à } 100 \mu\text{g}/\text{m}^3$ *
		Analyse thermique ou thermo-optique	$\approx 1 \text{ à } 5 \mu\text{g}/\text{m}^3$
micro-aéthalomètre	Suies $\Phi_{a.e. \text{ moyen}} \leq 2,5 \mu\text{m}$	Optique	$\approx 10 \mu\text{g}/\text{m}^3$

* Données calculées selon NF ISO 15767 et issues d'un circuit inter-laboratoire sur filtre PVC, dispositif de prélèvement cyclone Dorr-Oliver au débit de 1,5 L/min : 65 à 93 $\mu\text{g}/\text{m}^3$; dispositif de prélèvement cyclone GK 2.69 37 mm au débit de 4,2 L/min : 23 à 33 $\mu\text{g}/\text{m}^3$ [55].

Noir de carbone nanostructuré : vers une valeur limite d'exposition professionnelle

réduction de l'exposition nécessaire pour garantir la protection du salarié [68]. La protection minimale requise sera estimée par le rapport entre la concentration individuelle mesurée au poste de travail et la valeur limite d'exposition professionnelle recommandée. Différents niveaux de protection minimale pourront être définis en fonction des différents niveaux d'exposition individuelle mesurés lors des différentes phases de travail. Dans chaque cas, l'APR choisi devra avoir un facteur de protection assigné (FPA) supérieur ou égal à ce niveau de protection minimal. En effet le FPA prend en compte l'efficacité de filtration de l'APR mais également les fuites au visage lors de son utilisation puisque les valeurs de FPA sont issues de campagnes de mesure en situation de travail [68]. Le ou les type(s) d'APR étant défini(s), l'étape suivante de choix du modèle d'APR doit garantir son adaptation à la tâche réalisée et au porteur en intégrant le confort. Les caractéristiques faciales du porteur seront prises en compte pour le choix du modèle et de la taille de l'APR qui seront validés par un test d'ajustement du masque choisi sur le porteur, conformément aux recommandations de l'INRS [69]. L'utilisation des APR mis en place ne sera efficace que si un programme de protection respiratoire est développé en parallèle. Outre le choix des APR, ce programme doit comporter un volet de formation des opérateurs au port et à la maintenance de ces APR [68].

Le comportement aérodynamique des nanoparticules favorise leur captage par des systèmes de ventilation et par des filtres mais également leur dépôt sur les surfaces. Ceci nécessite d'établir des procédures de maintenance des installations, notamment de ventilation et de filtration, qui intègrent le risque d'exposition à ces dépôts de particules ultrafines.

ÉLÉMENTS ET DISCUSSION EN VUE DE L'ÉTABLISSEMENT D'UNE VLEP

Cet article a pour objectif d'engager des réflexions sur la possibilité de définir une VLEP pour le noir de carbone nanométrique en proposant une démarche pour l'évaluation de l'exposition à ces aérosols ainsi que les principales mesures de prévention à recommander.

Le corpus de données publiées, tant toxicologiques qu'épidémiologiques, semble suffisant pour construire une VLEP au sein d'une expertise collective. Les études épidémiologiques chez les travailleurs américains du NC n'ont montré aucun excès de cancer du poumon. Les études chez l'animal sont contrastées : positives chez le rat, négatives chez la souris ou le hamster. Plusieurs études expérimentales par inhalation ont montré que le NC induisait des tumeurs pulmonaires chez le rat lorsqu'il est administré à des doses entraînant une surcharge pulmonaire en particules, ainsi qu'une inflammation chronique et une hyperplasie épithéliale. Bien que le mécanisme de cancérogenèse chez le rat ne soit pas en totalité transposable à l'homme du fait de différences en termes de toxicocinétique et de sensibilité à l'induction d'une réponse inflammatoire pulmonaire, ce résultat positif a conduit le CIRC [1] à ne pouvoir exclure chez l'homme le risque des conséquences résultant d'une surcharge pulmonaire et à classer le NC dans le groupe 2B (l'agent est peut-être cancérogène pour l'homme) : cette évaluation reposait sur des preuves insuffisantes chez l'homme et suffisantes chez l'animal de laboratoire.

L'objectif de la future VLEP sera donc de prévenir une surcharge pulmonaire entraînant une génotoxicité

secondaire associée à une inflammation pulmonaire persistante et conduisant à des effets potentiels pulmonaires tels que la fibrose et le cancer. Pour y parvenir, des études comme celles d'Elder et al. [9] et Driscoll et al. [25] peuvent être utilisées. Dans les deux cas, il s'agissait d'expositions subchroniques de 13 semaines par inhalation à des NC de fourneau dont la surface spécifique est importante (300 et 220 m²/g), permettant d'obtenir chez le rat, espèce la plus sensible, les NOAEL respectifs de 1 mg/m³ et 1,1 mg/m³.

À partir de ces NOAEL, une modélisation permet ensuite d'obtenir la concentration équivalente chez l'homme (CEH) [70, 71]. Ces calculs peuvent faire intervenir la surface spécifique de particules déposées dans les poumons correspondant au NOAEL chez le rat comme dans l'expertise du NIOSH [72] : d'après la littérature, cette métrique décrit bien les relations dose-réponse pour les particules faiblement solubles et de faible toxicité intrinsèque [73, 74] malgré les différences de taille, de composition chimique et de structure cristalline des particules [71].

L'approche appliquée dans le rapport de la Commission allemande *Deutsche Forschungsgemeinschaft* (DFG) relatif aux valeurs limites d'exposition (valeurs MAK, *Maximale Arbeitsplatzkonzentrationen*) [70] et utilisée récemment dans un rapport de l'Agence nationale de sécurité sanitaire de l'alimentation, de l'environnement et du travail [75], prend notamment en compte les différences de temps d'élimination entre le rat et l'homme et conduit pour le NC à des CEH de 0,122 et de 0,169 mg/m³ à partir respectivement des NOAEL de Elder et al. [9] et Driscoll et al. [25].

Afin d'obtenir la VLEP, des facteurs d'incertitudes conventionnels

peuvent être aussi appliqués sur la CEH. Un de ces facteurs pourra considérer les effets potentiels sur les organes distants suite à la translocation pulmonaire au long cours du dépôt alvéolaire telle qu'identifiée par des expérimentations court terme chez le rongeur. Cette translocation décrite dans la littérature est certes de très faible intensité mais, sur le long terme ou pendant la grossesse, pourrait se révéler significative et éventuellement néfaste pour la santé.

La valeur de la future VLEP devra être exprimée en masse pour des raisons pratiques liées au contrôle des expositions professionnelles. Pour être qualifiées, les méthodes de mesure doivent permettre d'atteindre 1/10^e de la VLEP. La méthode actuelle la plus sensible ne permettrait pas d'évaluer des expositions inférieures à 10 µg/m³ pour un prélèvement de 8 h, ce qui pourrait poser des problèmes en termes de prévention. Le contrôle des expositions professionnelles devra également intégrer le fait que, dans la plupart des atmosphères de travail concernées, l'aérosol comprendra des particules alvéolaires micrométriques, en plus des nanométriques et nanostructurées. Il sera aussi nécessaire de tenir compte qu'une part significative de la masse prélevée sera représentée par les poussières micrométriques provenant de la pollution atmosphérique : le Haut Conseil de la santé publique [76] soulignait en effet qu'« en l'absence de sources intérieures, la contribution des sources extérieures permet d'expliquer une large part des concentrations mesurées dans les espaces clos, les teneurs dans une pièce étant bien corrélées aux concentrations extérieures » et que « 80 % des niveaux de PM_{2,5} dans l'air ambiant étaient retrouvés dans l'air intérieur ».

CONCLUSION

Le corpus de données publiées, tant épidémiologiques que toxicologiques, semble suffisant pour construire une VLEP au sein d'une expertise collective. Les études épidémiologiques chez les travailleurs américains du NC n'ont montré aucun excès de cancer du poumon. Les études expérimentales par inhalation sont négatives chez la souris ou le hamster mais positives chez le rat, avec l'induction de tumeurs pulmonaires lorsque le NC est administré à des doses entraînant une surcharge pulmonaire en particules, ainsi qu'une inflammation chronique et une hyper-

plasie épithéliale. Ce mécanisme a conduit le CIRC [1] à conclure que le NC est « *peut-être cancérigène pour l'homme* » (groupe 2B).

En conséquence, l'objectif est de prévenir une surcharge pulmonaire conduisant à une inflammation pulmonaire persistante suivie d'une fibrose ou d'un cancer. Ce mécanisme d'action ainsi que les caractéristiques physicochimiques d'insolubilité et de (faible) réactivité du noir de carbone ont permis la sélection d'études clés et le calcul d'une concentration équivalente humaine (CEH) sur laquelle un groupe d'expertise collective décidera de l'application de facteurs d'incertitude permettant de finaliser une VLEP 8 h.

POINTS À RETENIR

- Le noir de carbone est composé de carbone élémentaire pratiquement pur structuré en particules primaires quasi sphériques de diamètres moyens compris entre 10 et 500 nanomètres et de particules nanostructurées.
- En France, à partir des données d'exposition issues de la base COLCHIC, la médiane des concentrations atmosphériques sur la période 1994-2018 est de 0,6 mg/m³. Les données disponibles concernent principalement le secteur de la fabrication et les tâches d'ensachage et de chargement de trémies ou de silos.
- Le Centre international de recherche sur le cancer (CIRC) a classé le noir de carbone comme « *peut-être cancérigène pour l'homme* » (groupe 2B).
- Chez le rat, l'inhalation de noir de carbone induit des tumeurs pulmonaires à des doses entraînant une surcharge pulmonaire en particules, ainsi qu'une inflammation chronique et une hyperplasie épithéliale.
- Une concentration équivalente humaine comprise entre 0,122 et 0,169 mg/m³, a pu être déterminée, sur laquelle un groupe d'expertise collective pourrait construire une valeur limite d'exposition professionnelle (VLEP) 8 h, après application de facteur(s) d'incertitude.
- La sensibilité des techniques analytiques disponibles doit être considérée.
- *A minima*, les dispositifs de prélèvement ciblant la fraction conventionnelle alvéolaire seront utilisés. Des mesures en différé ou en temps réel peuvent être réalisées, en s'assurant de la nature nanométrique de l'aérosol carboné et du caractère mono-pollué de l'atmosphère.
- Les mesures de prévention à mettre en œuvre sont en priorité des mesures de protection collective, basées sur le principe de double barrière entre les nanoparticules et l'opérateur. Une information et une formation des opérateurs doivent accompagner ces mesures.



Noir de carbone nanostructuré : vers une valeur limite d'exposition professionnelle

BIBLIOGRAPHIE

- 1 | Carbon Black, Titanium Dioxide and Talc. IARC Monographs on the Evaluation of Carcinogenic Risks to Humans. Volume 93. IARC, 2010 (<http://monographs.iarc.fr/>).
- 2 | Guide de l'utilisateur du noir de carbone. Information sur la santé, la sécurité et l'environnement. Association Internationale de Noir de Carbone (AINC), 2016 (<http://www.carbon-black.org/images/docs/2016-ICBA-Carbon-Black-Users-Guide-French.pdf>).
- 3 | Noir de carbone. Fiche toxicologique FT 264. In: Fiches toxicologiques. INRS, 2007 (www.inrs.fr/fichetox).
- 4 | JANSSEN NAH, GERLOFS-NIJLAND ME, LANKI T, SALONEN RO ET AL. - Impact sanitaire du carbone noir. OMS, 2012 (www.euro.who.int/fr/health-topics/environment-and-health/air-quality/publications/2012/health-effects-of-black-carbon-2012).
- 5 | Human respiratory tract model for radiological protection. A report of a Task Group of the International Commission on Radiological Protection. ICRP Publication 66. *Ann ICRP* 1994 ; 24 (1-3) : 1-482.
- 6 | Methods for derivation of inhalation reference concentrations and application of inhalation dosimetry. EPA/600/8-90/066F. Environmental Protection Agency (US EPA), 1994 (https://www.epa.gov/sites/production/files/2014-11/documents/rfc_methodology.pdf).
- 7 | KREYLING WG, SEMMLER-BEHNKE M, TAKENAKA S, MÖLLER W - Differences in the biokinetics of inhaled nano- versus micrometer-sized particles. *Acc Chem Res*. 2013 ; 46 (3) : 714-22.
- 8 | MORROW PE - Possible mechanisms to explain dust overloading of the lungs. *Fundam Appl Toxicol*. 1988 ; 10 (3) : 369-84.
- 9 | ELDER A, GELEIN R, FINKELSTEIN JN, DRISCOLL KE ET AL. - Effects of subchronically inhaled carbon black in three species. I. Retention kinetics, lung inflammation, and histopathology. *Toxicol Sci*. 2005 ; 88 (2) : 614-29.
- 10 | PAULUHN J - Subchronic 13-week inhalation exposure of rats to multiwalled carbon nanotubes: toxic effects are determined by density of agglomerate structures, not fibrillar structures. *Toxicol Sci*. 2010 ; 113 (1) : 226-42.
- 11 | PAULUHN J - Poorly soluble particulates: Searching for a unifying denominator of nanoparticles and fine particles for DNEL estimation. *Toxicology*. 2011 ; 279 (1-3) : 176-88.
- 12 | LEVY L, CHAUDHURI IS, KRUEGER N, MCCUNNEY RJ - Does carbon black disaggregate in lung fluid? A critical assessment. *Chem Res Toxicol*. 2012 ; 25 (10) : 2001-06.
- 13 | KREYLING WG, SEMMLER-BEHNKE M, SEITZ J, SCYMCZAK W ET AL. - Size dependence of the translocation of inhaled iridium and carbon nanoparticle aggregates from the lung of rats to the blood and secondary target organs. *Inhal Toxicol*. 2009 ; 21 (Suppl 1) : 55-60.
- 14 | KERMANIZADEH A, BALHARRY D, WALLIN H, LOFT S ET AL. - Nanomaterial translocation. The biokinetics, tissue accumulation, toxicity and fate of materials in secondary organs. A review. *Crit Rev Toxicol*. 2015 ; 45 (10) : 837-72.
- 15 | GEISER M, KREYLING WG - Deposition and biokinetics of inhaled nanoparticles. *Part Fibre Toxicol*. 2010 ; 7 : 2.
- 16 | WIEBERT P, SANCHEZ-CRESPO A, FALK R, PHILIPSON K ET AL. - No significant translocation of inhaled 35-nm carbon particles to the circulation in humans. *Inhal Toxicol*. 2006 ; 18 (10) : 741-47.
- 17 | Nanomaterials. Commission for the Investigation of Health Hazards of Chemical Compounds in the Work Area. Report of Deutsche Forschungsgemeinschaft (DFG). Weinheim : Wiley-VCH Verlag ; 2013 : 94 p.
- 18 | GALLAGHER J, SAMS R 2ND, INMON J, GELEIN R ET AL. - Formation of 8-oxo-7,8-dihydro-2'-deoxyguanosine in rat lung DNA following subchronic inhalation of carbon black. *Toxicol Appl Pharmacol*. 2003 ; 190 (3) : 224-31.
- 19 | GILMOUR PS, ZIESENIS A, MORRISON ER, VICKERS MA ET AL. - Pulmonary and systemic effects of short-term inhalation exposure to ultrafine carbon black particles. *Toxicol Appl Pharmacol*. 2004 ; 195 (1) : 35-44.
- 20 | CHEN S, YIN R, MUTZE K, YU Y ET AL. - No involvement of alveolar macrophages in the initiation of carbon nanoparticle induced acute lung inflammation in mice. *Part Fibre Toxicol*. 2016 ; 13 (1) : 33.
- 21 | SCHMID O, STOEGER T - Surface area is the biologically most effective dose metric for acute nanoparticle toxicity in the lung. *J Aerosol Sci*. 2016 ; 99 : 133-43.
- 22 | CARTER JM, CORSON N, DRISCOLL KE, ELDER A ET AL. - A comparative dose-related response of several key pro- and antiinflammatory mediators in the lungs of rats, mice, and hamsters after subchronic inhalation of carbon black. *J Occup Environ Med*. 2006 ; 48 (12) : 1265-78.
- 23 | MA-HOCK L, STRAUSS V, TREUMANN S, KÜTTLER K ET AL. - Comparative inhalation toxicity of multi-wall carbon nanotubes, graphene, graphite nanoplatelets and low surface carbon black. *Part Fibre Toxicol*. 2013 ; 10 : 23.
- 24 | LIM CH, KANG M, HAN JH, YUN HI - Effects of Nano-sized Carbon Black on the Lungs of High Fat-diet Induced Overweight Rats. *Environ Health Toxicol*. 2013 ; 28 : e2013014.
- 25 | DRISCOLL KE, CARTER JM, HOWARD BW, HASSENBEIN DG ET AL. - Pulmonary inflammatory, chemokine, and mutagenic responses in rats after subchronic inhalation of carbon black. *Toxicol Appl Pharmacol*. 1996 ; 136 (2) : 372-80.
- 26 | NIKULA KJ, SNIPES MB, BARR EB, GRIFFITH WC ET AL. - Comparative pulmonary toxicities and carcinogenicities of chronically inhaled diesel exhaust and carbon black in F344 rats. *Fundam Appl Toxicol*. 1995 ; 25 (1) : 80-94.
- 27 | Opinion on Carbon black (nano-form). Scientific Committee on Consumer Safety (SCCS/1515/13). Second revision of 15 December 2015. European Commission, 2015 (https://ec.europa.eu/health/scientific_committees/consumer_safety/docs/sccs_o_144.pdf).

- 28 | LINDNER K, WEBERING S, STROEBELE M, BOCKHORN H ET AL. - Low Dose Carbon Black Nanoparticle Exposure Does Not Aggravate Allergic Airway Inflammation in Mice Irrespective of the Presence of Surface Polycyclic Aromatic Hydrocarbons. *Nanomaterials* (Basel). 2018 ; 8 (4) : E213.
- 29 | MODRZYNSKA J, BERTHING T, RAVN-HAREN G, JACOBSEN NR ET AL. - Primary genotoxicity in the liver following pulmonary exposure to carbon black nanoparticles in mice. *Part Fibre Toxicol*. 2018 ; 15 (1) : 2.
- 30 | SKOVMAND A, JENSEN ACØ, MAURICE C, MARCHETTI F ET AL. - Effects of maternal inhalation of carbon black nanoparticles on reproductive and fertility parameters in a four-generation study of male mice. *Part Fibre Toxicol*. 2019 ; 16 (1) : 13.
- 31 | EMA M, HOUGAARD KS, KISHIMOTO A, HONDA K - Reproductive and developmental toxicity of carbon-based nanomaterials: A literature review. *Nanotoxicology*. 2016 ; 10 (4) : 391-412.
- 32 | SKOVMAND A, JACOBSEN LAUVÅS A, CHRISTENSEN P, VOGEL U ET AL. - Pulmonary exposure to carbonaceous nanomaterials and sperm quality. *Part Fibre Toxicol*. 2018 ; 15 (1) : 10.
- 33 | UMEZAWA M, ONODA A, KORSHUNOVA I, JENSEN AC ET AL. - Maternal inhalation of carbon black nanoparticles induces neurodevelopmental changes in mouse offspring. *Part Fibre Toxicol*. 2018 ; 15 (1) : 36.
- 34 | SEATON A, MACNEE W, DONALDSON K, GODDEN D - Particulate air pollution and acute health effects. *Lancet*. 1995 ; 345 (8943) : 176-78.
- 35 | GANGULY K, ETEHADIEH D, UPADHYAY S, TAKENAKA S ET AL. - Early pulmonary response is critical for extra-pulmonary carbon nanoparticle mediated effects: comparison of inhalation versus intra-arterial infusion exposures in mice. *Part Fibre Toxicol*. 2017 ; 14 (1) : 19.
- 36 | CHRISTOPHERSEN DV, JACOBSEN NR, JENSEN DM, KERMAZIZADEH A ET AL. - Inflammation and vascular effects after repeated intratracheal instillations of carbon black and lipopolysaccharide. *PLoS One*. 2016 ; 11(8) : e0160731.
- 37 | ZHANG R, DAI Y, ZHANG X, NIU Y ET AL. - Reduced pulmonary function and increased pro-inflammatory cytokines in nanoscale carbon black-exposed workers. *Part Fibre Toxicol*. 2014 ; 11 : 73.
- 38 | YANG M, LI Y, MENG T, ZHANG L ET AL. - Ultrafine CB-induced small airway obstruction in CB-exposed workers and mice. *Sci Total Environ*. 2019 ; 671 : 866-73.
- 39 | NEGHAB M, MOHRAZ MH, HASSANZADEH J - Symptoms of respiratory disease and lung functional impairment associated with occupational inhalation exposure to carbon black dust. *J Occup Health*. 2011 ; 53 (6) : 432-38.
- 40 | RAMANAKUMAR AV, PARENT ME, LATREILLE B, SIEMIATYCKI J - Risk of lung cancer following exposure to carbon black, titanium dioxide and talc: results from two case-control studies in Montreal. *Int J Cancer*. 2008 ; 122 (1) : 183-89.
- 41 | ROTA M, BOSETTI C, BOCCIA S, BOFFETTA P ET AL. - Occupational exposures to polycyclic aromatic hydrocarbons and respiratory and urinary tract cancers: an updated systematic review and a meta-analysis to 2014. *Arch Toxicol*. 2014 ; 88 (8) : 1479-90.
- 42 | DELL LD, MUNDT KA, LUIPPOLD RS, NUNES AP ET AL. - A cohort mortality study of employees in the U.S. carbon black industry. *J Occup Environ Med*. 2006 ; 48 (12) : 1219-29.
- 43 | DELL LD, GALLAGHER AE, CRAWFORD L, JONES RM ET AL. - Cohort Study of Carbon Black Exposure and Risk of Malignant and Nonmalignant Respiratory Disease Mortality in the US Carbon Black Industry. *J Occup Environ Med*. 2015 ; 57 (9) : 984-97.
- 44 | YONG M, ANDERLE L, LEVY L, MCCUNNEY RJ - Carbon Black and Lung Cancer Mortality. A Meta-regression Analysis Based on Three Occupational Cohort Studies. *J Occup Environ Med*. 2019 ; 61 (11) : 949-54.
- 45 | MORFELD P, MUNDT KA, DELL LD, SORAHAN T ET AL. - Meta-Analysis of Cardiac Mortality in Three Cohorts of Carbon Black Production Workers. *Int J Environ Res Public Health*. 2016 ; 13 (3) : E302.
- 46 | DAI Y, NIU Y, DUAN H, BASSIG BA ET AL. - Effects of occupational exposure to carbon black on peripheral white blood cell counts and lymphocyte subsets. *Environ Mol Mutagen*. 2016 ; 57 (8) : 615-22.
- 47 | PIETROPAOLI AP, FRAMPTON MW, HYDE RW, MORROW PE ET AL. - Pulmonary function, diffusing capacity, and inflammation in healthy and asthmatic subjects exposed to ultrafine particles. *Inhal Toxicol*. 2004 ; 16 (Suppl 1) : 59-72.
- 48 | FRAMPTON MW, UTELL MJ, ZAREBA W, OBERDÖRSTER G ET AL. - Effects of exposure to ultrafine carbon particles in healthy subjects and subjects with asthma. *Res Rep Health Eff Inst*. 2004 ; 126 : 1-47 ; discussion 49-63.
- 49 | FRAMPTON MW, STEWART JC, OBERDÖRSTER G, MORROW PE ET AL. - Inhalation of ultrafine particles alters blood leukocyte expression of adhesion molecules in humans. *Environ Health Perspect*. 2006 ; 114 (1) : 51-58.
- 50 | ZAREBA W, COUDERC JP, OBERDÖRSTER G, CHALUPA D ET AL. - ECG parameters and exposure to carbon ultrafine particles in young healthy subjects. *Inhal Toxicol*. 2009 ; 21 (3) : 223-33.
- 51 | STEWART JC, CHALUPA DC, DEVLIN RB, FRASIER LM ET AL. - Vascular effects of ultrafine particles in persons with type 2 diabetes. *Environ Health Perspect*. 2010 ; 118 (12) : 1692-98.
- 52 | VORA R, ZAREBA W, UTELL MJ, PIETROPAOLI AP ET AL. - Inhalation of ultrafine carbon particles alters heart rate and heart rate variability in people with type 2 diabetes. *Part Fibre Toxicol*. 2014 ; 11 : 31.
- 53 | WITSCHGER O, LE BIHAN O, REYNIER M, DURAND C ET AL. - Préconisations en matière de caractérisation des potentiels d'émission et d'exposition professionnelle aux aérosols lors d'opérations mettant en œuvre des nanomatériaux. Note documentaire ND 2355. *Hyg Secur Trav*. 2012 ; 226 : 41-55.
- 54 | SIMON X, BAU S, WITSCHGER O - Prélèvement des aérosols par cyclone. Version 2.0 janvier 2019. In: Guide

Noir de carbone nanostructuré : vers une valeur limite d'exposition professionnelle

BIBLIOGRAPHIE (suite)

- méthodologique MétroPol. INRS, 2019 (www.inrs.fr/dms/inrs/PDF/metropol-prelevement-cyclone/metropol-prelevement-cyclone.pdf).
- 55 | Aérosols en fraction alvéolaire. Méthode M-278. In: MétroPol. INRS, 2016 (www.inrs.fr/metropol/).
- 56 | Particules émises par des moteurs diesel. Méthode M-341. In: MétroPol. INRS, 2016 (www.inrs.fr/metropol/).
- 57 | BIRCH ME - Occupational monitoring of particulate diesel exhaust by NIOSH method 5040. *Appl Occup Environ Hyg.* 2002 ; 17 (6) : 400-05.
- 58 | LONG CM, NASCARELLA MA, VALBERG PA - Carbon black vs. black carbon and other airborne materials containing elemental carbon: physical and chemical distinctions. *Environ Pollut.* 2013 ; 181 : 271-86.
- 59 | Occupational Exposure to Carbon Nanotubes and Nanofibers. Current Intelligence Bulletin 65. Publication n° 2013-145. NIOSH, 2013 (<https://www.cdc.gov/niosh/docs/2013-145/default.html>).
- 60 | ONO-OGASAWARA M, SERITA E, TAKAYA M - Distinguishing nanomaterial particles from background airborne particulate matter for quantitative exposure assessment. *J Nanopart Res.* 2009 ; 11 (7) : 1651-59.
- 61 | LING MP, CHIO CP, CHOU WC, CHEN WY ET AL - Assessing the potential exposure risk and control for airborne titanium dioxide and carbon black nanoparticles in the workplace. *Environ Sci Pollut Res Int.* 2011 ; 18 (6) : 877-89.
- 62 | RICAUD M, CHAZELET S, BELUT E, BEMER D ET AL - Nanomatériaux. Ventilation et filtration de l'air des lieux de travail. Édition INRS ED 6181. Paris : INRS. 2014 : 23 p.
- 63 | CESARD V, BELUT E, PREVOST C, TANIÈRE A ET AL - Assessing the containment efficiency of a microbiological safety cabinet during the simultaneous generation of a nanoaerosol and a tracer gas. *Ann Occup Hyg.* 2013 ; 57 (3) : 345-59.
- 64 | Emploi de matériaux pulvérulents. 2^e édition. Guide pratique de ventilation 17. Édition INRS ED 767. Paris : INRS ; 2003 : 32 p.
- 65 | LEE JH, KWON M, Ji JH, KANG CS ET AL - Exposure assessment of workplaces manufacturing nanosized TiO₂ and silver. *Inhal Toxicol.* 2011 ; 23 (4) : 226-36.
- 66 | HEITBRINK WA, LO LM, DUNN KH - Exposure controls for nanomaterials at three manufacturing sites. *J Occup Environ Hyg.* 2015 ; 12 (1) : 16-28.
- 67 | METHNER MM - Engineering case reports. Effectiveness of local exhaust ventilation (LEV) in controlling engineered nanomaterial emissions during reactor cleanout operations. *J Occup Environ Hyg.* 2008 ; 5 (6) : D63-9.
- 68 | GUIMON M - Les appareils de protection respiratoire. Choix et utilisation. 5^e édition. Édition INRS ED 6106. Paris : INRS ; 2019 : 64 p.
- 69 | CHAZELET S, GUIMON M - Protection respiratoire. Réaliser des essais d'ajustement. Aide-mémoire technique. Édition INRS ED 6273. Paris : INRS ; 2016 : 17 p.
- 70 | General threshold limit value for dust (R fraction). Biopersistent granular dusts. The MAK-collection for occupational health and safety. Part I: MAK value documentations. Wiley-VCH Verlag, Deutsche Forschungsgemeinschaft (DFG), 2014 (<https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/3527600418.mbo23ostwe5314>).
- 71 | KUEMPEL ED, SWEENEY LM, MORRIS JB, JARABEK AM - Advances in Inhalation Dosimetry Models and Methods for Occupational Risk Assessment and Exposure Limit Derivation. *J Occup Environ Hyg.* 2015 ; 12 (Suppl 1) : S18-40.
- 72 | Occupational exposure to titanium dioxide. Current Intelligence Bulletin 63. DHHS Publication n° 2011-160. NIOSH, 2011 (<https://www.cdc.gov/niosh/docs/2011-160/default.html>).
- 73 | QSARs and grouping of chemicals (Chapter R.6). Appendix R.6-1 for nanoforms applicable to the Guidance on QSARs and Grouping of Chemicals. Version 2.0. December 2019. ECHA, 2019 (https://echa.europa.eu/documents/10162/23036412/appendix_r6_nanomaterials_en.pdf/71ad76fo-ab4c-fb04-acba-074cfo45eaaa).
- 74 | WHO guidelines on protecting workers from potential risks of manufactured nanomaterials. WHO, 2017 (<https://apps.who.int/iris/bitstream/handle/10665/259671/9789241550048-eng.pdf>).
- 75 | Dioxyde de titane sous forme nanoparticulaire : l'Anses définit une Valeur Toxicologique de Référence (VTR) pour l'exposition chronique par inhalation. ANSES, 2019 (<https://www.anses.fr/fr/content/dioxyde-de-titane-sous-forme-nanoparticulaire-l%E2%80%99anses-d%C3%A9finit-une-valeur-toxicologique-de>).
- 76 | Valeurs repères d'aide à la gestion pour les particules dans l'air intérieur. Avis et rapport du 14 juin 2013. Haut Conseil de la Santé publique (HCSP), 2013 (<https://www.hcsp.fr/Explore.cgi/avisrapportsdomaine?clefr=371>).