
Analyse bibliographique comparée de rapports d'expertise sur les risques liés à l'exposition aux nanoparticules d'argent

Saisine « n° 2011-SA-0224 - nanoparticules d'argent »

RAPPORT d'analyse bibliographique

**Première étape de la mise à jour de l'expertise relative à l'évaluation des risques liés au
nano-argent**

Mars 2012

Mots clés

Nano-argent, nanomatériau, toxicité, écotoxicité.

Présentation des intervenants

PREAMBULE : Les experts externes, membres de comités d'experts spécialisés, de groupes de travail ou désignés rapporteurs sont tous nommés à titre personnel, *intuitu personae*, et ne représentent pas leur organisme d'appartenance.

RAPPORTEURS

Eric GAFFET – Directeur de recherche (CNRS) – Physico-chimie et métrologie des nanomatériaux – Membre du Comité d'experts spécialisés « Agents physiques, nouvelles technologies et grands aménagements.

Rémi MAXIMILIEN – Directeur de recherche (CEA / Direction des Sciences du Vivant) – Toxicologie - Membre du groupe de travail « nanotechnologies et alimentation ».

Fabrice NESSLANY – Chef du service de Toxicologie Génétique à l'Institut Pasteur de Lille – Toxicologie - Membre du groupe de travail « nanotechnologies et alimentation ».

Mélanie AUFFAN – Chargée de recherche (CNRS) - Exposition et écotoxicologie.

COMITE D'EXPERTS SPECIALISE

Les travaux objets du présent rapport ont été discutés et commentés par le CES « Agents physiques, nouvelles technologies et grands aménagements » lors des séances des 12 janvier et 20 mars 2012.

Présidente

Martine HOURS – Médecin épidémiologiste, Directeur de recherche à l'Institut français des sciences et technologies des transports, de l'aménagement et des réseaux (Ifsttar).

Membres

Francine BEHAR-COHEN – Ophtalmologiste praticienne, Directeur de recherche à l'Institut national de la santé et de la recherche médicale (Inserm).

Jean-Marc BERTHO – Chercheur / Expert en radiobiologie au laboratoire de radiotoxicologie expérimentale de l'Institut de Radioprotection et de Sécurité Nucléaire (IRSN)

Jean-Pierre CÉSARINI – Retraité (Directeur du laboratoire de recherche sur les tumeurs de la peau humaine, fondation A. de Rothschild et Inserm).

Frédéric COUTURIER – Ingénieur, Responsable du département « Études » à l'Agence Nationale des Fréquences (ANFR).

Jean-François DORÉ – Directeur de recherche émérite à l'Institut national de la santé et de la recherche médicale (Inserm).

Pierre DUCIMETIERE – Directeur de recherche honoraire à l’Institut national de la santé et de la recherche médicale (Inserm).

Aïcha EL KHATIB – Chargée de mission à l’Assistance Publique des Hôpitaux de Paris - Hôpital Avicenne.

Nicolas FELTIN – Responsable de mission au Laboratoire national de métrologie et d’essais (LNE).

Emmanuel FLAHAUT – Directeur de recherche au Centre national de recherche scientifique (CNRS).

Eric GAFFET – Directeur de recherche au Centre National de la Recherche Scientifique (CNRS).

Murielle LAFAYE – Ingénieur, Coordinatrice applications au Centre national d’études spatiales (CNES).

Philippe LEPOUTRE – Ingénieur acousticien, Responsable du pôle technique de l’Autorité de Contrôle des Nuisances Sonores Aéroportuaires (Acnusa).

Christophe MARTINSONS – Docteur en physique, Chef de pôle au Centre scientifique et technique du bâtiment (CSTB).

Catherine MOUNEYRAC – Directrice de l’Institut de biologie et d’écologie appliquée et Professeur en Écotoxicologie aquatique à l’Université catholique de l’ouest (UCO).

Alain MUZET – Retraité CNRS, médecin, spécialiste du sommeil et de la vigilance.

Yves SICARD – Maître de conférences à l’Université Josef Fourier, Conseiller Scientifique au Commissariat à l’Energie Atomique et aux Energies alternatives (CEA).

Alain SOYEZ – Responsable de laboratoires, Ingénieur conseil, Caisse d’assurance retraite et de santé au travail Nord Picardie.

Esko TOPPILA – Professeur, Directeur de recherche à l’Institut finlandais de santé au travail.

Catherine YARDIN – Professeur, Chef de service, médecin biologiste à l’Hôpital Dupuytren, CHU de Limoges.

PARTICIPATION ANSES

Coordination scientifique

Nathalie THIERIET – Chef de projets scientifiques dans l’unité agents physiques, nouvelles technologies et grands aménagement.

Contribution scientifique

Anthony CADENE – Chargé de projets scientifiques – Unité agents physiques, nouvelles technologies et grands aménagement.

Jenny DUPIN – Stagiaire Master 2 – Unité agents physiques, nouvelles technologies et grands aménagement.

Johanna FITE - Chargée de projets scientifiques – Unité agents physiques, nouvelles technologies et grands aménagement.

Julien JEAN – Chargé de projets scientifiques – Unité d'évaluation des risques chimiques dans les aliments.

Olivier MERCKEL – Chef de l'unité « agents physiques, nouvelles technologies et grands aménagement ».

Gilles RIVIERE - Chef de l'unité « évaluation des risques chimiques dans les aliments ».

Secrétariat administratif

Sophia SADDOKI - Anses

SOMMAIRE

Présentation des intervenants	3
Sigles et abréviations	7
Liste des tableaux	7
Liste des figures	8
1 Contexte, objet et modalités de traitement de la saisine.....	9
1.1 Généralités	9
1.2 Contexte de la demande	10
1.3 Objet de la saisine	11
1.4 Modalités de traitement :	11
2 Analyse des différences entre les rapports de l'Anses et du BfR.....	12
2.1 Objectifs portés par les travaux du BfR et de l'Anses	12
2.2 Comparaison des méthodes d'expertise de l'Anses et du BfR	13
2.3 Analyse comparée des bibliographies des rapports du BfR et de l'Anses	13
2.3.1 Identification des différences dans les ressources bibliographiques.....	13
2.3.2 Analyse des sources bibliographiques communes aux rapports de l'Anses (2010) et du BfR (2009).....	15
3 Conclusions et recommandations des agences	18
3.1 Conclusions des rapports	18
3.1.1 Les conclusions du BfR	18
3.1.2 Les conclusions de l'Anses.....	18
3.2 Les recommandations des agences	19
3.2.1 Les recommandations du BfR	19
3.2.2 Les recommandations de l'Anses.....	19
3.3 Synthèse	20
4 De nouvelles données scientifiques.....	23
5 Conclusions.....	24
6 Bibliographie	25
6.1 Publications	25
6.2 Normes	26
Annexe 1 : Lettre de saisine.....	28

Annexe 2 : Liens mentionnés dans les déclarations publiques d'intérêts des experts	30
Annexe 3 : Définitions des nanomatériaux	32
Annexe 4 : Sources bibliographiques communes aux rapports du BfR (2009) et de l'Anses (2010)	34
Source / citations	34
Anses 2010 : Les nanomatériaux	34
BfR : Avis sur le nano-argent	34
Annexe 5 : Sources bibliographiques des trois rapports relatives aux chapitres « nanoparticules d'argent »	36

Sigles et abréviations

Afssa : Agence française de sécurité sanitaire de l'alimentation

Afsset : Agence française de sécurité sanitaire de l'environnement et du travail

Ag : Argent

Ag⁺ : Ion argent

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

BfR : *Bundesinstitut für Risikobewertung*, l'institut fédéral d'évaluation des risques allemand

CES : Comité d'experts spécialisés

CMI : Concentration minimale inhibitrice

DGAL : Direction générale de l'alimentation

DGS : Direction générale de la santé

DGT : Direction générale du travail

GT : Groupe de travail

MCDA : Matériau au contact des denrées alimentaires

Ppm : Partie par million

PVP : Polyvinylpyrrolidone

ROS : *Reactive Oxygen Species*, espèces réactives de l'oxygène

Liste des tableaux

Tableau 1 : comparaison des rapports des deux agences sur les nanoparticules d'argent	21
Tableau 2 : Sources bibliographiques communes aux deux rapports	34

Tableau 3 : Sources bibliographiques du rapport de l'Afsset (2010) spécifiques à l'évaluation des risques du nano-argent.....	36
Tableau 4 : sources bibliographiques du rapport du BfR (2009).....	41

Liste des figures

Figure 1 : Répartition par thèmes des références bibliographiques : BfR (2009) et Anses (2010).....	14
Figure 2 : Nombre des sources bibliographiques selon les dates de parution : BfR (2009) et Anses (2010).	15

1 Contexte, objet et modalités de traitement de la saisine

1.1 Généralités

Les nanomatériaux sont souvent considérés comme des objets constitués de structures élémentaires dont au moins une des dimensions est comprise entre 1 et 100 nanomètres. En réalité, cette définition n'est pas suffisante pour décrire toute la complexité de leur réalité physico-chimique. Ainsi, plusieurs tentatives de définitions précises des nanomatériaux coexistent actuellement et diffèrent notamment quant aux critères physico-chimiques pris en compte¹. En France, une définition est partiellement donnée par le décret n° 2012-232 du 17 février 2012 relatif à la déclaration annuelle obligatoire des substances à l'état nanoparticulaire² (cf. Annexe 3). Cependant, toutes les définitions actuelles désignent des objets dont la caractéristique dimensionnelle d'ordre nanométrique est susceptible de leur conférer des propriétés ou des comportements particuliers. Lorsqu'ils sont fabriqués intentionnellement, les nanomatériaux sont appelés « manufacturés ». Dans le présent rapport, les produits de consommation dans lesquels sont intégrés des nanomatériaux seront désignés par le terme « nano-produits »³.

En raison de la grande diversité de leurs propriétés physiques, chimiques ou biologiques, les nanomatériaux trouvent aujourd'hui des applications dans de nombreux secteurs d'activités industrielles. Les multiples tentatives nationales et internationales d'inventaire, en dépit des fortes incertitudes liées à la difficile traçabilité des nano-produits, montrent sans ambiguïté un accroissement du nombre de produits de consommation contenant des nanomatériaux manufacturés.

L'analyse de l'inventaire (non exhaustif) des produits disponibles sur le marché français réalisé par l'Anses en 2010 a notamment montré l'existence d'un grand nombre d'applications utilisant de l'argent, le plus fréquemment sous forme de nanoparticules (enrobées en surface e.g. de citrate, de PVP) et agrégées. De nombreux domaines d'application sont ainsi concernés, par exemple l'alimentation (emballages de produits alimentaires, revêtement de réfrigérateurs), les textiles (vêtements, literie), les produits de cosmétiques et d'hygiène (pansements antibactériens, brosses à dents). L'intégration de nanoparticules d'argent dans ces articles commerciaux répond principalement à des finalités antibactérienne et antifongique.

La production et l'utilisation croissantes des nanomatériaux dans des produits de consommation courante soulèvent de multiples interrogations sur leurs risques potentiels pour la santé humaine et pour l'environnement :

- les propriétés intrinsèques particulières de ces nanomatériaux conditionnent-elles des comportements singuliers dans l'organisme et dans l'environnement ? Une toxicité

¹ Norme ISO/TS-80004-1 :2010, recommandations de la Commission européenne 2011/696/UE ; JRC - *Considerations on a Definition of Nanomaterial for Regulatory Purposes, etc.*)

² La définition utilisée par les autorités française sera complète lorsque l'arrêté d'application de ce décret sera publié.

³ « Évaluation des risques liés aux nanomatériaux pour la population générale et l'environnement » – Afsset (2010).

spécifique (passage des barrières naturelles de l'organisme, bio-persistance, toxicité systémique, etc.) ?

- comment caractériser de manière fiable l'exposition humaine et environnementale ?

1.2 Contexte de la demande

Dans son avis n° 024/2010 du 28 décembre 2009, l'Institut fédéral allemand d'évaluation des risques (*Bundesinstitut für Risikobewertung* - BfR) a indiqué qu'il n'était pas encore possible d'évaluer les risques sanitaires liés aux nanoparticules d'argent. Il a alors recommandé aux fabricants de renoncer à l'utilisation d'argent ou de composés d'argent à l'échelle nanométrique dans les produits alimentaires et les produits de consommation courante (plastiques au contact des denrées alimentaires, additifs alimentaires, traitement des eaux et produits cosmétiques) jusqu'à ce que les données disponibles permettent d'évaluer définitivement les risques sanitaires et que l'innocuité sanitaire de ces produits soit garantie. Le BfR a ensuite réitéré cet avis dans un communiqué publié le 10 juin 2010.

Certains industriels ayant alors objecté que les données étaient suffisantes pour évaluer les risques liés à l'utilisation des nanoparticules d'argent dans des produits de consommation et dans les aliments, le BfR a réuni les différentes parties prenantes intéressées (experts scientifiques, associations, industriels) lors d'un *workshop* afin de discuter des risques connus et des options envisageables pour mettre en place une protection adéquate des consommateurs. À l'issue de cette réunion, le président du BfR a maintenu la position de son agence (12 avril 2011).

De son côté, l'Anses ⁴ a récemment publié deux rapports sur l'évaluation des risques des nanomatériaux : « Nanotechnologies et nanoparticules dans l'alimentation humaine et animale » (mars 2009) et « Nanomatériaux et produits de consommation » (mars 2010)⁵. Devant le manque de données sur la dangerosité potentielle des nanomatériaux et l'impossibilité de caractériser le risque associé aux produits contenant des nanomatériaux, l'Anses a émis des recommandations visant notamment à limiter l'exposition des consommateurs et de l'environnement, ces recommandations s'appliquant à la fois aux nano-produits déjà sur le marché et aux futurs nano-produits.

Ainsi, dans son avis du 17 mars 2010 sur l'évaluation des risques liés aux nanomatériaux pour la population générale et pour l'environnement, l'Agence concluait, s'agissant de l'évaluation pionnière des risques pour des chaussettes antibactériennes contenant des nanoparticules d'argent, que pour l'Homme (voie d'exposition cutanée) et pour l'environnement, si le risque lié à l'utilisation de ce produit ne peut être estimé, il ne peut cependant pas être exclu. L'Anses recommandait alors de limiter l'exposition des consommateurs et de l'environnement [...] « par la réduction de l'exposition des consommateurs aux produits contenant des nanomatériaux manufacturés et de leur dissémination dans l'environnement, dans le cadre d'une approche graduelle, notamment :

⁴ L'Afsset (Agence française de sécurité sanitaire de l'environnement et du travail) et l'Afssa (Agence française de sécurité sanitaire de l'alimentation) ont fusionné le 1^{er} juillet 2010 pour créer l'Agence nationale de sécurité sanitaire de l'alimentation, de l'environnement et du travail (Anses).

⁵ À noter que l'Agence a publié en février 2008 un rapport sur les « nanoparticules manufacturées dans l'eau », qui recense notamment un certain nombre d'utilisations de nanoparticules d'argent dans des applications de filtration d'eau,

en favorisant les produits sûrs et équivalents en termes de fonction, d'efficacité et de coût dépourvus de nanomatériaux ;
en restreignant le recours aux produits dont l'utilité démontrée serait faible pour les consommateurs, par exemple sur la base d'une analyse socio-économique de type bénéfice/risque ;
en restreignant le recours aux produits susceptibles de libérer des nanomatériaux ou des espèces chimiques pouvant présenter un risque pour l'homme ou pour l'environnement au cours de leur utilisation, sous contrainte d'usage normal et en fin de vie. Le critère de persistance dans l'environnement doit être également pris en compte, dans l'éventualité d'un impact à long terme ;
en limitant dès aujourd'hui aux usages essentiels le recours aux nanomatériaux pour lesquels des alertes de danger ont été identifiées ».

Comme l'avait déjà souligné auparavant le BfR dans ses avis, l'Agence a pointé la nécessité d'engager des recherches pour acquérir les connaissances nécessaires à l'établissement de conclusions solides quant aux risques pour l'homme.

1.3 Objet de la saisine

À la suite de la publication des recommandations du BfR, la Direction générale de la santé (DGS), la Direction générale du travail (DGT) ainsi que la direction générale de l'alimentation (DGAL) ont saisi l'Agence le 10 août 2011 (Annexe 1 : Lettre de saisine).

La demande formulée dans cette saisine intitulée « Mise à jour de l'expertise relative à l'évaluation des risques liés aux nanomatériaux pour la population générale, pour l'alimentation et pour l'environnement : cas particulier du nano-argent » porte, dans un premier temps, sur l'analyse des différences éventuelles existantes entre les connaissances scientifiques sur lesquelles se sont fondés les travaux du BfR d'une part et de l'Anses d'autre part, en 2009 et 2010. Ce rapport propose donc une analyse comparée des différences, sur le plan bibliographique, entre le rapport du BfR et ceux de l'Anses (phase 1).

Si des différences majeures sont identifiées lors de cette première analyse, il est demandé d'analyser les avis et recommandations publiés par des instances d'expertise nationales ou internationales, y compris celles spécifiques au milieu du travail, afin d'actualiser l'expertise à la lumière de ces éventuelles connaissances nouvelles.

1.4 Modalités de traitement :

L'expertise présente a été réalisée dans le respect de la norme NF X 50-110 « Qualité en expertise – prescriptions générales de compétence pour une expertise (Mai 2003) », avec pour objectif le respect des points suivants : compétence, indépendance, transparence, traçabilité.

L'Anses a préparé, avec ce rapport d'analyse bibliographique, la réponse à la première étape de la saisine au moyen de son expertise interne, complétée par la relecture de quatre experts rapporteurs externes.

L'avis n°024/20 10 adopté par le BfR le 28 décembre 2009 a été traduit par l'Anses en français, il comporte 16 pages. La présente expertise est fondée sur cette traduction, dont sont tirés les extraits cités dans ce rapport.

Les travaux d'expertise ont été présentés au Comité d'experts spécialisé (CES) « Agents physiques, nouvelles technologies et grands aménagement » (tant sur les aspects méthodologiques que scientifiques) qui les a commentés les 12 janvier et 20 mars 2012.

2 Analyse des différences entre les rapports de l'Anses et du BfR

Pour déterminer si les travaux du BfR sur les nanoparticules d'argent sont fondés sur des connaissances scientifiques nouvelles et différentes de celles des rapports de l'Anses publiés en 2009 et 2010, un examen détaillé des travaux d'expertise (produits et voies d'exposition considérées), des méthodes de travail des agences et des références bibliographiques considérées a été effectué.

2.1 Objectifs portés par les travaux du BfR et de l'Anses

L'objectif principal de l'avis du BfR (2009) était de répondre aux questions suivantes vis-à-vis de l'utilisation de l'argent :

- Dans quelle mesure les consommateurs sont-ils en contact avec les particules d'argent de taille nanométrique ?
- Quels sont les effets des nanoparticules d'argent sur l'homme ?
- Quel est le danger du développement de la résistance bactérienne et de la propagation de résistances antibiotiques ?

Ainsi, dans son rapport sur l'utilisation de l'argent (notamment à l'échelle nanométrique) dans les produits de consommation courante, le BfR prend en compte les différentes propriétés suivantes :

- biocide de surface dans les matières plastiques au contact avec les denrées alimentaires ;
- colorant ou additif alimentaire ;
- agent conservateur pour l'eau potable et les cosmétiques.

L'examen prend en compte l'argent sous différentes formes (sels d'argent, ions argent et nanoparticules d'argent, bien que la nature nanoparticulaire de l'argent et les propriétés de surface des nanoparticules ne soient pas systématiquement définies) et deux voies d'exposition (ingestion et l'absorption cutanée).

Le rapport « Nanotechnologies et nanoparticules dans l'alimentation humaine et animale » de l'Anses (2009) avait pour but de déterminer s'il existait des produits contenant des nanoparticules (notamment aliments destinés à l'homme ou l'animal, matériaux et objet destinés à entrer au contact de ces denrées), d'établir la liste des catégories de produits concernés, de quantifier leur utilisation et de procéder à une évaluation bénéfice/risque. L'Anses a donc procédé à une revue générale de l'utilisation de différents nanomatériaux dans l'alimentation sans focalisation particulière sur les nanoparticules d'argent. De ce fait, la seule voie d'exposition considérée a été l'ingestion. Bien que les nanoparticules d'argent soient évoquées à plusieurs reprises (l'hydrosol d'argent en tant que complément alimentaire ; nanoparticules d'argent intégrées dans les matériaux au contact des denrées alimentaires), aucune synthèse sur leurs utilisations ou les risques qui pourraient être associés n'a été effectuée.

L'objectif du rapport de l'Anses « Nanomatériaux et produits de consommation » (2010) était d'élaborer et d'étudier des scénarios d'exposition de la population générale à quelques nanomatériaux manufacturés contenus dans un échantillon de produits mis sur le marché, en prenant en compte les différentes voies d'exposition, afin d'évaluer les risques potentiels pour la

population générale. Dans ce cadre, il était demandé à l'Agence de s'intéresser aux produits et à leurs utilisations les plus pertinents, afin d'analyser les modalités d'exposition prépondérantes de la population générale.

L'Agence a alors procédé, sur la base d'un inventaire – non exhaustif – de produits de consommation contenant des nanomatériaux, à une évaluation des risques de quatre produits, dont des chaussettes contenant des nanoparticules d'argent. La voie d'exposition principale considérée a été l'exposition cutanée. La dissémination probable de nanoparticules d'argent dans l'environnement consécutive à l'utilisation de ces produits avait été mentionnée, mais le manque de données quantitatives suffisamment fiables n'avait pas permis d'aboutir à une caractérisation fine de cette exposition.

2.2 Comparaison des méthodes d'expertise de l'Anses et du BfR

Pour réaliser son avis sur le nano-argent publié en décembre 2009 le BfR s'est appuyé sur une expertise interne au sein des départements de la sécurité des produits, de la sécurité biologique, de la sécurité alimentaire et de la sécurité des produits chimiques. L'institut a confirmé les positions exprimées dans cet avis à la suite des deux *workshops* organisés en 2011 et 2012 qui ont réunit des experts internationaux issus du monde de la recherche scientifique, mais aussi des représentants d'associations ou d'industries.

Pour le rapport de 2009 (27 pages) sur les risques liés aux nanomatériaux utilisés dans l'alimentation, l'Anses s'est appuyée sur l'expertise de 8 rapporteurs et de 6 CES.

Pour celui de 2010 sur les produits de consommation constitué de 207 pages, l'Anses a confié l'expertise d'abord à 4 experts rapporteurs pour effectuer l'inventaire, puis au groupe de travail « Nanomatériaux et exposition du consommateur », rattaché au CES « Evaluation des risques liés aux agents physiques, aux nouvelles technologies et aux grands aménagements ».

2.3 Analyse comparée des bibliographies des rapports du BfR et de l'Anses

En raison de leurs objets d'étude différents, les rapports du BfR et de l'Anses ont exploité des ressources bibliographiques sensiblement différentes.

2.3.1 Identification des différences dans les ressources bibliographiques

Le rapport du BfR qui exploite 28 références bibliographiques, parues entre 1975 et 2009, se focalise sur la résistance bactérienne (13 références, soit près de la moitié des références – Cf. le Tableau 4 en annexe) et l'utilisation de l'argent dans les additifs alimentaires (expliquant ainsi les multiples références à des textes réglementaires dans la bibliographie). Seulement deux articles, un publié en 1995 et l'autre en 2003 traitant de la toxicologie de l'argent (non nanométrique), sont référencés.

Il est particulièrement intéressant de noter que 100 % des publications ayant trait à la résistance bactérienne concerne l'argent et non les nanoparticules d'argent.

Afin d'estimer les risques liés à l'utilisation des nanomatériaux dans l'alimentation humaine, l'Anses s'est appuyée sur 83 références bibliographiques publiées entre 1984 et 2009, portant sur différents types de nanomatériaux et sur les mécanismes nutritionnels. La moitié de ces sources

bibliographiques (41/83) est constituée d'études toxicologiques, dont une seule concerne les nanoparticules d'argent⁶.

Dans son rapport sur les nanomatériaux contenus dans les produits de consommation, l'Anses a considéré 203 références bibliographiques. L'évaluation des risques liés aux nanoparticules d'argent s'est appuyée sur 70 études datant de 1975 à 2009 (portant sur les plantes, les algues, les poissons, les nématodes et les bactéries). Parmi ces 70 références, 41 sont des études toxicologiques (toxicologie générale, génotoxicologie, cytotoxicologie et écotoxicologie) dont la majorité (33/41) date des années 2008 et 2009. En complément de l'étude de l'exposition cutanée aux nanoparticules d'argent – pour laquelle les données toxicologiques étaient parcellaires (seulement 2 publications sur le passage transcutané *in vitro*⁷) et en absence d'étude de toxicité aiguë et/ou chronique par la voie cutanée, l'Anses a considéré par défaut les données concernant la voie orale). Ces derniers points justifient la multitude et la variété des sources bibliographiques étudiées (Cf. en annexe le Tableau 3). En revanche, ce rapport consacré avant tout à l'exposition de la population générale cite mais ne détaille pas les aspects relatifs aux mécanismes d'action antibactérienne des nanoparticules d'argent et à la bactériorésistance liée à l'emploi de ces nanoparticules.

La Figure 1 présente la répartition des références bibliographiques considérées par le BfR et le rapport de l'Anses 2010 en fonction de l'objet étudié. La Figure 2 expose la répartition des références bibliographiques en fonction de leurs dates de publication. Les sources bibliographiques considérées par l'Anses dans son rapport publié en 2010 (la grande majorité est parue après 2004) sont plus récentes que celles analysées par le BfR.

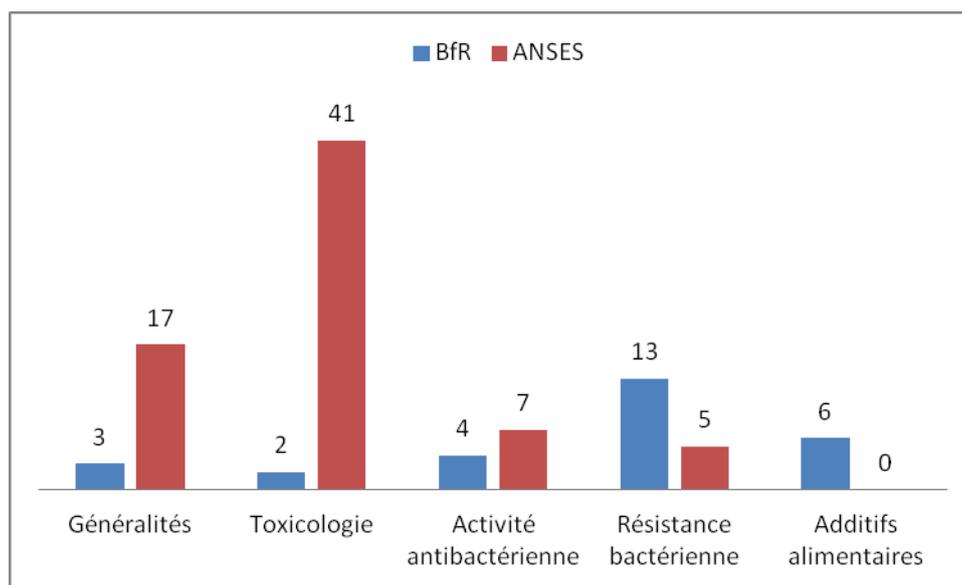


Figure 1 : Répartition par thèmes des références bibliographiques : BfR (2009) et Anses (2010).

⁶ Kim, Y. S., Kim, J. S., Cho, H. S., *et al.* . 2008. Twenty-eight-day oral toxicity, genotoxicity, and gender-related tissue distribution of silver nanoparticles in Sprague-Dawley rats. *Inhal Toxicol* 20 (6): 575-83.

⁷ Filon, F. L., *et al.* (2007). [In vitro percutaneous absorption of silver nanoparticles]. *G Ital Med Lav Ergon* 29(3 Suppl): 451-452. et Larese, F. F., *et al.* (2009). Human skin penetration of silver nanoparticles through intact and damaged skin. *Toxicology* 255(1-2): 33-37

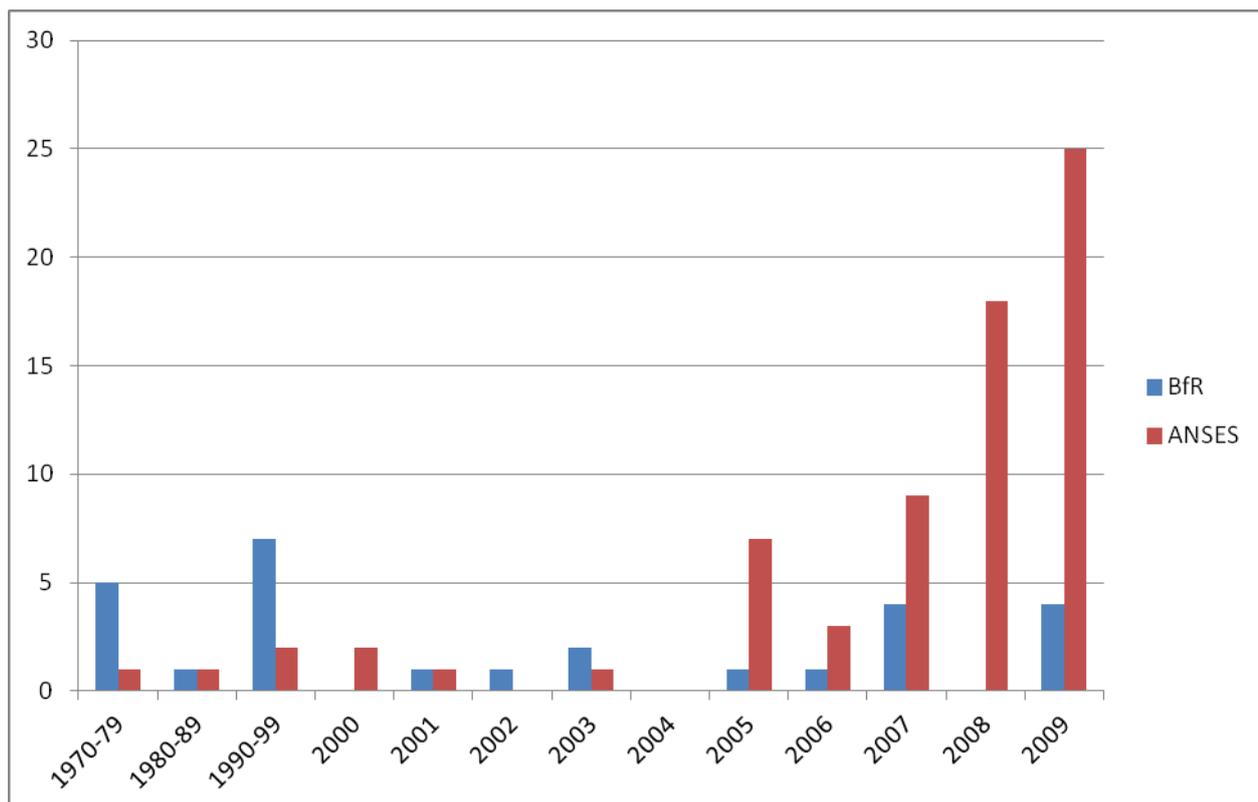


Figure 2 : Nombre des sources bibliographiques selon les dates de parution : BfR (2009) et Anses (2010).

2.3.2 Analyse des sources bibliographiques communes aux rapports de l'Anses (2010) et du BfR (2009)

Sur l'ensemble des références bibliographiques citées, seulement 5 sources sont communes aux rapports du BfR (2009) et de l'Anses (2010) et (Cf. en annexe le Tableau 2). Ce dernier n'a aucun article en commun avec le rapport de l'Anses publié en 2009 consacré aux nanomatériaux dans l'alimentation. Les argumentaires repris par les agences dans ces 5 publications sont détaillés ci-dessous.

- 1) L'étude de *Pal et al (2007)* étudie l'influence de la forme et de la réactivité de surface des nanoparticules d'argent sur l'activité antibactérienne. Les résultats indiquent que l'effet bactéricide de l'argent nanoparticulaire dépend de la forme (en sphère, en bâton, en dés, en filaments, irrégulière, nanofilm) et de la concentration. De même, l'anion super-oxyde généré à la surface des nanoparticules d'argent métal ou par les ions argent (Ag^+) relargués suite à la dissolution des nanoparticules pourrait être responsable des activités bactéricides.

Le BfR a souligné l'influence de la forme de ces nanomatériaux sur leur réactivité, tandis que l'Anses a considéré essentiellement la spéciation de l'argent (Ag^0 ou Ag^+) à l'origine de la réactivité de surface des nanoparticules d'argent.

- 2) L'étude de *Chopra et al (2007)* indique qu'il n'existe pas encore de procédure standardisée pour mesurer l'efficacité antibactérienne d'un produit et qu'il est essentiel de répondre aux questions concernant les mécanismes et les risques cliniques relatifs au développement de résistances bactériennes à l'argent. À ce jour, 2 hypothèses de mécanismes de résistances bactériennes sont décrites (acquisition d'un plasmide et mutation génétique).

L'Anses cite cet article pour expliquer que le développement de la résistance bactérienne à l'argent, et la résistance aux antibiotiques, doivent être pris en considération et que les mécanismes génétiques de résistance bactérienne doivent être mieux explorés.

L'expertise du BfR, qui porte principalement sur le développement de la résistance bactérienne à l'argent, souligne que les ions argent se fixent aux ions chlorure, phosphate et sulfate. L'Agence exprime ainsi son inquiétude face à une utilisation parfois mal adaptée de produits contenant des nanoparticules d'argent. L'activité bactéricide de ces nanoparticules dépend de la quantité d'ions libérés en continu (valeur CMI). Dans les pansements à effet bactéricide, un taux de libération de l'argent cationique d'au moins 70-100 ppm est recommandé²⁰. Si cette quantité n'est pas atteinte, le développement d'une résistance bactérienne est à craindre. L'exploitation de cette publication réalisée par le BfR insiste également sur les aspects mécanistiques de la résistance bactérienne, notamment sur sa transmission possible entre générations bactériennes. Cependant, la publication indique que le plasmide de résistance à l'argent⁸ ne se transmet pas et ne s'établit que rarement entre les souches.

- 3) L'étude de *Morones et al (2005)* est citée par le BfR pour mettre en évidence que l'effet bactéricide peut résulter du simple contact avec la nanoparticule d'argent, sans impliquer la libération d'ions Ag⁺.

L'Anses mentionne cette étude pour illustrer l'activité antibactérienne de nanoparticules d'argent de moins de 10 nm de diamètre après leur internalisation chez *Escherichia Coli* et *Pseudomonas aeruginosa*.

- 4) L'étude de *Lok et al (2007)* montre que les petites nanoparticules d'argent (1-12 nm) en concentration suffisamment forte exercent un effet bactéricide bien supérieur à celles de plus de 12 nm, partiellement oxydées.

Ces observations sont reprises par le BfR pour souligner la problématique des résistances bactériennes à l'argent. De son côté, l'Anses cite ce travail pour illustrer la complexité des mécanismes de l'activité antibactérienne des nanoparticules d'argent. Ces mécanismes pourraient être influencés par des facteurs abiotiques de l'environnement, comme la salinité qui aurait pour effet de diminuer l'effet bactéricide du fait de la formation de précipités de chlorure d'argent.

- 5) L'étude de *Wijnhoven et al (2009)*, citée dans le rapport du BfR mais non exploitée, est explicitement commentée par l'Anses pour souligner la nécessité de :

- renforcer les connaissances concernant les voies d'absorption des nanoparticules d'argent dans l'organisme et la transposition des données « micro » à l'échelle nano ;
- explorer les effets des nanoparticules d'argent sur le système immunitaire ;
- mieux prendre en compte la spéciation pour évaluer les effets toxiques à court et à long terme des substances à base d'argent.

Ainsi, le BfR s'appuie sur les articles analysés ci-dessus pour argumenter ses interrogations sur le développement d'une résistance bactérienne à l'argent, d'autant plus à craindre qu'on assiste actuellement à un accroissement des usages de l'argent dans les biens de consommation. La multiplication des applications de l'argent peut être à la source d'utilisations incorrectes (concentrations insuffisantes pour obtenir un effet bactéricide efficace) et par là même favoriser l'émergence de résistances bactériennes à l'argent.

⁸ Plasmide pMG101 observé dans la famille des entérobactéries.

De son côté, l'Anses utilise ces références bibliographiques dans une analyse plus globale du sujet pour aborder à la fois les aspects toxicologiques et écotoxicologiques des nanoparticules d'argent.

3 Conclusions et recommandations des agences

3.1 Conclusions des rapports

3.1.1 Les conclusions du BfR

Le BfR conclut que les données actuellement disponibles ne permettent pas d'évaluer correctement le risque sanitaire du consommateur exposé aux composés de l'argent, notamment sous ses formes nanoparticulaires. De plus, le rapport du BfR stipule « qu'en ce qui concerne l'utilisation autorisée de composés d'argent pour les produits cosmétiques, aucun danger pour le consommateur n'est actuellement scientifiquement justifié ».

3.1.2 Les conclusions de l'Anses

Dans son rapport de 2009 dédié aux nanomatériaux utilisés dans l'alimentation, l'Anses a conclu qu'il n'est pas possible, compte tenu des connaissances disponibles, d'évaluer l'exposition du consommateur ni les risques sanitaires liés à l'ingestion des nanomatériaux.

Dans son rapport de 2010, l'Anses s'est notamment intéressée au cas des chaussettes antibactériennes contenant des nanoparticules d'argents pour illustrer le problème des articles de consommation contenant des nanomatériaux. L'évaluation quantitative des risques n'avait alors pas pu être réalisée, les études spécifiques à cette voie d'exposition étant peu nombreuses, incomplètes ou non transposables au problème donné. En effet, la plupart des études ont été réalisées *in vitro* et non *in vivo*, avec une méthodologie non standardisée, ou encore sans caractérisation physico-chimique des nanoparticules d'argent. De fait, aucun danger spécifique à une exposition cutanée aux nanoparticules d'argent n'avait pu être identifié et par conséquent aucun risque relatif à l'utilisation du nano-argent n'avait pu être quantifié, concernant l'utilisation des chaussettes. Cependant, des dangers relatifs aux nanoparticules d'argent - hors exposition cutanée - ont bel et bien été identifiés pour l'homme et l'environnement :

In vitro, des nanoparticules d'argent ont induit des lésions de l'ADN dépendantes de la dose⁹ ainsi qu'un stress oxydant contribuant notamment à des modifications morphologiques cellulaires, à un dysfonctionnement mitochondrial et à l'augmentation de la génération d'espèces réactives de l'oxygène (ERO) dose-dépendantes, quelle que soit leur taille¹⁰¹¹.

In vivo, les nanoparticules d'argent ont aussi montré une toxicité chez divers organismes, avec par exemple pour conséquence une augmentation des taux de mortalité et un retard d'éclosion chez le

⁹ aussi bien dans le test du micronoyau que dans le test des comètes (Larese F.F., 2009; Asharani P.V., 2009).

¹⁰ (Larese F.F., 2009; Hussain S.M., 2005; Hsin Y.H., 2008; Carlson C., 2008; Arora S., 2008; Arora S., 2009)

¹¹ Les quelques études de génotoxicité *in vitro* démontrent un potentiel génotoxique *via* des cassures double-brin de l'ADN à des faibles concentrations au moins dans le test des comètes (25 µg/ml). À ce niveau de concentrations, la production d'ERO a été démontrée et leur rôle dans la génotoxicité des nanoparticules d'argent, provenant à la fois des ions Ag²⁺ et de l'état nanoparticulaire, apparaît comme étant probable.

poisson zèbre (*Dario rerio*) ou encore une diminution du pouvoir reproducteur chez un nématode (*Caenorhabditis elegans*).

En conclusion, concernant l'utilisation de nanomatériaux et les risques pour l'environnement et la population générale, l'Anses a rappelé que, bien qu'il y ait des indications de danger potentiel pour certaines nanoparticules, le manque de données (caractérisations physico-chimiques, toxicologiques, etc.) ne permettait pas d'estimer le risque associé ; celui-ci ne pouvait donc être exclu.

Cette conclusion générale sur les nanomatériaux avait notamment été reprise spécifiquement pour les nanoparticules d'argent contenues dans les chaussettes antibactériennes :

« étant donnée l'augmentation prévisible du nombre de biens de consommation intégrant des nanoparticules d'argent, de la diversité de l'exposition et du danger avéré chez certaines espèces animales, l'argent utilisé sous ses différentes formes constituera certainement un risque pour l'environnement, même s'il n'est pas mesurable actuellement. Ce risque devra faire l'objet d'une surveillance particulière ».

Ainsi, en dépit de finalités différentes, les rapports des deux agences apportent des conclusions similaires, soulignant :

- le manque de données (métrologiques pour l'exposition, toxicologiques, etc.) sur les nanoparticules d'argent ;
- la difficulté de réaliser des évaluations des risques en l'absence de données spécifiques aux nanomatériaux contenus dans les produits de consommation.

3.2 Les recommandations des agences

3.2.1 Les recommandations du BfR

Constatant le manque de données pour évaluer les risques potentiels de l'utilisation des nanoparticules d'argent dans l'alimentation et dans les cosmétiques, le BfR « recommande aux fabricants de renoncer à l'utilisation d'argent ou de composés d'argent à l'échelle nanométrique dans les produits alimentaires et les produits de consommation courante jusqu'à ce que les données disponibles permettent d'évaluer définitivement les risques sanitaires et que l'innocuité sanitaire des produits soit garantie ».

Parallèlement, le BfR considère comme urgent le besoin d'études sur le risque de propagation de résistance bactérienne en citant quelques pistes précises (méthodes de test standardisées pour déterminer l'effet antimicrobien, mécanismes moléculaires de l'effet bactéricide ainsi que de la résistance, épidémiologie de la propagation de la résistance, cinétique de la libération de l'argent des produits et des biens de consommation). Il est intéressant de noter que le BfR soulève cette problématique du fait d'une augmentation de l'utilisation de l'argent en général, et non des nanoparticules d'argent spécifiquement.

3.2.2 Les recommandations de l'Anses

En 2009, l'Anses recommandait de développer les travaux de recherche sur les nanomatériaux, d'être prudent à l'égard de l'utilisation des nanoparticules dans l'alimentation humaine et animale et de procéder à la déclaration systématique de ces substances.

En 2010, s'inspirant du principe de précaution, l'Anses recommandait de réduire « l'exposition des consommateurs aux produits contenant des nanomatériaux manufacturés ainsi que leur dissémination dans l'environnement, dans le cadre d'une approche graduelle, notamment :

- en favorisant les produits sûrs et équivalents en termes de fonction, d'efficacité et de coût dépourvus de nanomatériaux ;
- en restreignant le recours aux produits dont l'utilité démontrée serait faible pour les consommateurs, par exemple sur la base d'une analyse socio-économique de type bénéfice/risque ;
- en restreignant le recours aux produits susceptibles de libérer des nanomatériaux ou des espèces chimiques pouvant présenter un risque pour l'homme ou pour l'environnement au cours de leur utilisation, sous contrainte d'usage normal et en fin de vie. Le critère de persistance dans l'environnement doit être également pris en compte, dans l'éventualité d'un impact à long terme ;
- en limitant dès aujourd'hui aux usages essentiels le recours aux nanomatériaux pour lesquels des alertes de danger ont été identifiées ».

3.3 Synthèse

L'étude des objectifs, des méthodes et du contenu des rapports publiés par le BfR et l'Anses en 2009 et 2010 permet, concernant les risques liés à l'utilisation des nanoparticules d'argent dans des produits de consommation, d'explicitier le décalage apparent entre les recommandations de gestion exprimées par les deux agences soulevé par le demandeur de la saisine (*cf.* Tableau 1).

Les questions initiales posées par les deux Agences n'étaient pas les mêmes :

- la préoccupation majeure du BfR était l'apparition possible de résistance bactérienne à l'argent ;
- l'Anses en 2009 a recherché les risques potentiels liés à l'utilisation de nanomatériaux dans l'alimentation humaine et animale,
- et l'Anses en 2010 avait pour but de réaliser une évaluation des risques des nanoparticules d'argent dans les chaussettes antibactériennes.

Les deux agences s'accordent cependant, après examen de la littérature disponible, pour recommander le développement de la recherche en toxicologie et en écotoxicologie (avec la mise en place notamment de méthodologies standardisées) ainsi que dans le domaine de l'évaluation des expositions humaines et environnementales. Les différents rapports respectifs des 2 institutions mettent l'accent sur le manque de données, tant en ce qui concerne les caractéristiques physico-chimiques et propriétés des nanomatériaux que les aspects toxicologiques ou écotoxicologiques, soulignant pour ces derniers les lacunes méthodologiques existantes (aucun test standardisé n'est actuellement disponible, notamment, aucune donnée sur la nature des particules n'est fournie).

L'Anses et le BfR concluent de ce fait qu'il était impossible, au moment de la publication de leurs rapports respectifs, de réaliser une évaluation des risques complète des nanoparticules d'argents et donc d'estimer un risque pour la population - et pour l'environnement - lié à ces nanomatériaux.

Néanmoins, l'Anses soulignait dans son avis publié en 2010 qu'« en raison de l'augmentation attendue du nombre de produits de consommation intégrant des nanoparticules d'argent, de la diversité de l'exposition et du danger avéré chez certaines espèces animales [...], le risque pour l'environnement [...], même s'il n'est pas mesurable aujourd'hui, devra faire l'objet d'une attention particulière ».

Tableau 1 : comparaison des rapports des deux agences sur les nanoparticules d'argent

	« Nanotechnologies et nanoparticules dans l'alimentation humaine et animale » (Anses, 2009)	« Nanomatériaux et exposition du consommateur » (Anses, 2010)	« Utilisation du nano-argent dans les produits alimentaires et les produits de consommation courante » (BfR, 2009)
Nature de l'argent étudié	Argent nanométrique	Argent nanométrique	Sels d'argent, ions Ag, Argent nanométrique
Produit(s) considéré(s)	Additifs alimentaires (hydrosol d'argent) ; matériaux au contact de denrées alimentaires (MCDA)	Chaussettes antibactériennes	Additifs alimentaires, MCDA, cosmétiques
Voie(s) d'exposition considérée(s)	Orale	Cutanée	Orale ; cutanée
Extrait des conclusions	Évaluation de l'exposition des consommateurs liée à l'ingestion impossible	Évaluation de l'exposition des consommateurs par voie cutanée impossible	Les données actuellement disponibles ne permettent pas de communiquer une évaluation définitive des risques sanitaires liés à l'exposition du consommateur à ces produits
Extrait des recommandations	Développer les travaux de recherche ; Être prudent à l'égard de l'utilisation des nanoparticules en alimentation humaine et animale ; Déclaration systématiquement de ces substances	Incitation à la recherche dans les domaines de la caractérisation physico-chimique, de l'évaluation de l'exposition, de la toxicologie ; Mise en place de la traçabilité des données ; Limitation de l'exposition des consommateurs et de l'environnement : favoriser les produits sûrs et équivalents en termes de fonction, d'efficacité et de coût dépourvus de nanomatériaux, restreindre le recours aux produits dont l'utilité démontrée serait faible pour les consommateurs, restreindre le recours aux produits susceptibles de libérer des nanomatériaux ou des espèces chimiques pouvant présenter un risque pour l'homme ou pour l'environnement au cours de leur utilisation et limiter dès aujourd'hui aux usages essentiels le recours aux nanomatériaux pour lesquels des alertes de danger ont été	À l'attention des industriels : renoncer à l'utilisation d'argent ou de composés d'argent à l'échelle nanométrique dans les produits alimentaires et les produits de consommation courante jusqu'à ce que les données disponibles permettent d'évaluer définitivement les risques sanitaires et que l'innocuité sanitaire des produits soit garantie

	« Nanotechnologies et nanoparticules dans l'alimentation humaine et animale » (Anses, 2009)	« Nanomatériaux et exposition du consommateur » (Anses, 2010)	« Utilisation du nano-argent dans les produits alimentaires et les produits de consommation courante » (BfR, 2009)
		identifiées.	
Organisation de l'expertise	6 CES 8 rapporteurs	CES « Agents physiques » GT « nanomatériaux et exposition du consommateur » 4 experts rapporteurs	Expertise interne pour le rapport et l'avis. Les conclusions et recommandations ont été ensuite discutées au cours de 2 <i>workshops</i> .

4 De nouvelles données scientifiques

En 2010, le manque de données relatives aux nanoparticules d'argent (caractérisations physico-chimiques, études toxicologiques, etc.) ne permettait pas d'estimer complètement le risque associé. Depuis, plusieurs dizaines d'études concernant le nano-argent ont été publiées.

Une recherche bibliographique rapide sur le moteur *PubMed*, permet d'obtenir les résultats suivants :

Mots clés utilisés sur <i>PubMed</i>	Nombre d'articles recensés ¹² (2010-2012)
<i>Toxicity silver nanoparticles</i>	24
<i>Toxicity nanosilver</i>	5
<i>Toxicity silver nanoparticle</i>	6
<i>Cytotoxicity silver nanoparticles</i>	8
<i>Ecotoxicity silver nanoparticles</i>	2
<i>Bacteria silver nanoparticles</i>	5

Remarque : résultats obtenus le 21/02/2012.

Parmi ces nouvelles études scientifiques, certaines d'entre elles apporteraient de nouvelles informations dans différents champs d'études : toxicité cérébrale, passage cutané et impacts sur le développement de certains poissons, notamment.

Désormais, dans la plupart des études, la nature nanoparticulaire de l'argent semble correctement analysée, les expositions aiguës et chroniques traitées, de même que les impacts environnementaux sur les espèces exposées de manière indirecte aux nanoparticules d'argent, ou encore les effets *in vivo*.

Toutes ces données parues depuis 2010 sur la toxicité et l'écotoxicité des nanoparticules d'argent méritent d'être expertisées, afin de mettre à jour l'expertise sur l'évaluation des risques liés aux nanoparticules d'argent.

¹² La présence de doublons a été vérifiée et corrigée.

5 Conclusions

Les rapports de l'Anses et du BfR concernant les nanoparticules d'argent répondent à des préoccupations différentes : résistances bactériennes - liées à l'argent au sens large - principalement pour le BfR et risque alimentaire, cutané et environnemental pour l'Anses. La plupart des références bibliographiques utilisées par les Agences ne sont donc naturellement pas les mêmes : seules 5 publications scientifiques sont communes aux rapports des deux agences.

L'Anses et le BfR se sont accordés pour souligner l'impossibilité de réaliser une évaluation de risque complète pour les produits contenant des nanoparticules d'argent, faute de connaissances scientifiques suffisantes. Elles ont donc reconnu toutes deux que les risques pour la santé et l'environnement liés aux nanoparticules d'argent contenues dans des produits de consommation courante ne pouvaient être exclus. L'Anses avait également souligné que le risque pour l'environnement, en raison du danger avéré chez certaines espèces animales, devait faire l'objet d'une attention particulière.

Si les recommandations portées par le BfR ont pu sembler plus protectrices que celles formulées par l'Anses, en réalité, elles ne diffèrent pas tant sur le fond mais plutôt sur la forme de leur expression.

Le BfR, dans ses avis et communiqués de presse, a recommandé aux industriels de ne plus produire de produits contenant des nanoparticules d'argent. Cette recommandation de portée générale se fonde essentiellement sur le risque d'apparition d'une résistance à l'argent chez les bactéries. De son côté, l'Anses a formulé des recommandations plus ciblées, préconisant une réduction de l'exposition des consommateurs dans le cadre d'une approche graduelle. Ainsi, l'Agence a recommandé de favoriser les produits sûrs et équivalents en termes de fonction, d'efficacité et de coût dépourvus de nanomatériaux, de restreindre le recours aux produits dont l'utilité démontrée serait faible pour les consommateurs, de restreindre le recours aux produits susceptibles de libérer des nanomatériaux ou des espèces chimiques pouvant présenter un risque pour l'homme ou pour l'environnement au cours de leur utilisation et de limiter dès aujourd'hui aux usages essentiels le recours aux nanomatériaux pour lesquels des alertes de danger ont été identifiées.

Les différences observées dans les recommandations des deux agences ne sont donc pas fondées sur de nouvelles connaissances scientifiques que le BfR aurait considérées dans son étude, mais sont liées notamment à la prise en compte d'objets d'études, de voies d'exposition et d'usage de produits contenant des nanomatériaux différents.

L'Anses avait déjà souligné en 2010 la nécessité d'investigations complémentaires pour consolider l'évaluation des risques des nanomatériaux. Aujourd'hui, de nouvelles connaissances disponibles sur la caractérisation et sur la toxicité des nanoparticules d'argent justifient de réaliser une nouvelle évaluation des risques.

6 Bibliographie

6.1 Publications

- AFSSA (2009). Nanotechnologies et nanoparticules dans l'alimentation humaine et animale. 27 Maisons-Alfort : AFSSA.
- AFSSET (2010). Nanomatériaux et exposition du consommateur. 207 Maisons-Alfort : AFSSET.
- Arora, S., Jain, J., Rajwade, J. M. & Paknikar, K. M. (2008). Cellular responses induced by silver nanoparticles: In vitro studies. *Toxicol Lett* 179(2): 93-100.
- Arora, S., Jain, J., Rajwade, J. M. & Paknikar, K. M. (2009). Interactions of silver nanoparticles with primary mouse fibroblasts and liver cells. *Toxicol Appl Pharmacol* 236(3): 310-318.
- AshaRani, P. V., Low Kah Mun, G., Hande, M. P. & Valiyaveetil, S. (2009). Cytotoxicity and genotoxicity of silver nanoparticles in human cells. *ACS Nano* 3(2): 279-290.
- BfR (2009). Avis n°024/20 10 du 28 décembre 2009.
- Carlson, C., Hussain, S. M., Schrand, A. M., Braydich-Stolle, L. K., Hess, K. L., Jones, R. L. & Schlager, J. J. (2008). Unique cellular interaction of silver nanoparticles: size-dependent generation of reactive oxygen species. *J Phys Chem B* 112(43): 13608-13619.
- Chopra, I. (2007). The increasing use of silver-based products as antimicrobial agents: a useful development or a cause for concern? *J Antimicrob Chemother* 59(4): 587-590.
- Filon, F. L., D'Agostin, F., Crosera, M., Adami, G., Rosani, R., Romano, C., Bovenzi, M. & Maina, G. (2007). [In vitro percutaneous absorption of silver nanoparticles]. *G Ital Med Lav Ergon* 29(3 Suppl): 451-452.
- Hsin, Y. H., Chen, C. F., Huang, S., Shih, T. S., Lai, P. S. & Chueh, P. J. (2008). The apoptotic effect of nanosilver is mediated by a ROS- and JNK-dependent mechanism involving the mitochondrial pathway in NIH3T3 cells. *Toxicol Lett* 179(3): 130-139.
- Hussain, S. M., Hess, K. L., Gearhart, J. M., Geiss, K. T. & Schlager, J. J. (2005). In vitro toxicity of nanoparticles in BRL 3A rat liver cells. *Toxicol In Vitro* 19(7): 975-983.
- Kim, Y. S., Kim, J. S., Cho, H. S., Rha, D. S., Kim, J. M., Park, J. D., Choi, B. S., Lim, R., Chang, H. K., Chung, Y. H., Kwon, I. H., Jeong, J., Han, B. S. & Yu, I. J. (2008). Twenty-eight-day oral toxicity, genotoxicity, and gender-related tissue distribution of silver nanoparticles in Sprague-Dawley rats. *Inhal Toxicol* 20(6): 575-583.
- Larese, F. F., D'Agostin, F., Crosera, M., Adami, G., Renzi, N., Bovenzi, M. & Maina, G. (2009). Human skin penetration of silver nanoparticles through intact and damaged skin. *Toxicology* 255(1-2): 33-37.
- Lok, C. N., Ho, C. M., Chen, R., He, Q. Y., Yu, W. Y., Sun, H., Tam, P. K., Chiu, J. F. & Che, C. M. (2007). Silver nanoparticles: partial oxidation and antibacterial activities. *J Biol Inorg Chem* 12(4): 527-534.
- Morones, J. R., Elechiguerra, J. L., Camacho, A., Holt, K., Kouri, J. B., Ramirez, J. T. & Yacaman, M. J. (2005). The bactericidal effect of silver nanoparticles. *Nanotechnology* 16(10): 2346-2353.
- Pal, S., Tak, Y. K. & Song, J. M. (2007). Does the antibacterial activity of silver nanoparticles depend on the shape of the nanoparticle? A study of the Gram-negative bacterium *Escherichia coli*. *Appl Environ Microbiol* 73(6): 1712-1720.
- Wijnhoven, S. W. P., Peijnenburg, W. J. G. M., Herberts, C. A., Hagens, W. I., Oomen, A. G., Heugens, E. H. W., Roszek, B., Bisschops, J., Gosens, I., Van De Meent, D., Dekkers, S., De Jong, W. H., Van

Zijverden, M., Sips, A. J. A. M. & Geertsma, R. E. (2009). Nano-silver - A review of available data and knowledge gaps in human and environmental risk assessment. *Nanotoxicology* 3(2): 109-138.

6.2 Normes

NF X 50-110 (mai 2003) Qualité en expertise – Prescriptions générales de compétence pour une expertise. AFNOR (indice de classement X 50-110).

ANNEXES

Annexe 1 : Lettre de saisine

→ AD
Classé 4
P.M.



n-489 2011-SA-0224

COURRIER ARRIVE

17 AOUT 2011

DIRECTION GENERALE
MINISTRE DE L'ECONOMIE, DES FINANCES
ET DE L'INDUSTRIE

→ CTS

MINISTRE DU TRAVAIL, DE L'EMPLOI
ET DE LA SANTE

Direction générale de la santé

Direction générale du travail

Direction générale de la concurrence, de la
consommation et de la répression des fraudes

MINISTRE DE L'AGRICULTURE, DE
L'ALIMENTATION, DE LA PECHE, DE LA
RURALITE ET DE L'AMENAGEMENT DU
TERRITOIRE

Direction générale de l'alimentation

MINISTRE DE L'ECOLOGIE, DU
DEVELOPPEMENT DURABLE, DES TRANSPORTS
ET DU LOGEMENT

Direction générale de la prévention des risques

Paris, le 10 AOU 2011

Le Directeur général de la santé,

Le Directeur général du travail,

La Directrice générale de l'alimentation,

La Directrice générale de la concurrence, de la
consommation et de la répression des fraudes

Le Directeur général de la prévention des
risques,

à

Monsieur le Directeur général de l'Anses
27-31 avenue du Général Leclerc
94701 Maisons-Alfort

Objet : Mise à jour de l'expertise relative à l'évaluation des risques liés aux nanomatériaux pour la population générale, pour l'alimentation et pour l'environnement : cas particulier du nano-argent

L'institut fédéral d'évaluation des risques allemand (Bundesinstitut für Risikobewertung, BfR), a recommandé, dans son avis du 28 décembre 2009 sur la toxicité des nanoparticules d'argent, de supprimer toute utilisation de l'argent sous forme nanométrique dans les denrées alimentaires et les produits de consommation courante, dans l'attente de disposer de données suffisantes pour l'évaluation des risques liés à ces expositions. A la suite de cette recommandation, le BfR a constitué un groupe de travail réunissant les différentes parties prenantes (représentants d'industries, d'associations de consommateurs, de chercheurs et d'experts scientifiques). Ce groupe de travail avait pour objectif de :

- vérifier la faisabilité d'une évaluation des risques liés au nano-argent,
- identifier les options possibles pour assurer la protection des consommateurs en l'état actuel des connaissances.

Les résultats des travaux du groupe ayant confirmé les conclusions du BfR de 2009, l'institut a donc renouvelé, le 12 avril 2011, sa recommandation visant à suspendre l'utilisation de l'argent sous forme nanométrique dans les denrées alimentaires et les produits de consommation courante.

Concernant le risque lié à l'utilisation de nano-argent, votre agence a conclu, dans son avis de mars 2010 relatif à l'évaluation des risques liés aux nanomatériaux pour la population générale et pour l'environnement, que ce risque ne peut être estimé et qu'il ne peut donc être exclu. Au vu de ces précédentes conclusions et de celles de l'avis de mars 2009 relatif aux nanotechnologies et nanoparticules dans l'alimentation humaine et animale, il n'apparaissait pas urgent de suspendre, quand il y a lieu, ou de ne pas autoriser¹ les usages du nano-argent dans les biens de consommation, les ingrédients alimentaires et les matériaux en contact des denrées alimentaires.

Nous souhaitons donc savoir si les travaux du BfR sont fondés sur des connaissances scientifiques nouvelles comparativement à vos expertises de 2009 et 2010.

A ce titre, en vous appuyant sur votre système de veille pour la thématique des nanotechnologies, nous vous demandons dans un premier temps, d'analyser les différences éventuelles, sur le plan bibliographique, entre le rapport du BfR et ceux de l'Anses datés de 2009 et 2010.

Si des différences majeures sont identifiées lors de cette première analyse, nous vous demandons d'analyser les avis et recommandations publiés par des instances d'expertise nationale ou internationale, y compris en milieu de travail, afin de mettre à jour votre expertise à la lumière de ces éventuelles connaissances nouvelles.

Nous vous remercions de bien vouloir nous indiquer dans les meilleurs délais les modalités et le calendrier de réponse à cette saisine.

Le Directeur général
de la santé



Jean-Yves GRALL

Le Directeur général
du travail



Jean-Denis COMBEXELLE

La Directrice générale
de l'alimentation



Pascale BRIAND

La Directrice générale de la
concurrence, de la consommation et de
la répression des fraudes



Nathalie HOMOBONO

Le Directeur général de la prévention des
risques



Laurent MICHEL

¹ En ce qui concerne les denrées alimentaires, l'argent est autorisé dans l'Union européenne en tant que colorant (additif E 174) pour l'enrobage de confiserie, la décoration de chocolat et les liqueurs. Il est prévu une réévaluation de l'argent (sous forme nanométrique ou non nanométrique) en tant qu'additif par l'AESA avant 2015 et l'appel à données déjà lancé comprend une demande d'information relative à la taille des particules. L'argent (et a fortiori le nano-argent) n'est pas dans les listes des vitamines et minéraux autorisés pour la fabrication de compléments alimentaires et l'adjonction aux denrées alimentaires. Toutefois, l'utilisation de nano-argent dans les matériaux au contact des denrées alimentaires reste possible.

Annexe 2 : Liens mentionnés dans les déclarations publiques d'intérêts des experts

Cette partie présente les liens déclarés par les experts dans le cadre de leur déclaration publique d'intérêt et précise d'une part comment ces liens ont été analysés par rapport au domaine sur lequel porte la saisine et d'autre part la manière dont ils ont été gérés, eu égard à un risque potentiel de conflit d'intérêts.

Les déclarations publiques d'intérêts sont mises à jour par les experts à chaque changement de situation.

Au cours des expertises, les liens d'intérêts sont réexaminés au vu de l'ordre du jour au début de chaque réunion.

RAPPEL DES RUBRIQUES DE LA DECLARATION PUBLIQUE D'INTERETS

IF	Intérêts financiers dans le capital d'une entreprise
IP-A	Interventions ponctuelles : autres
IP-AC	Interventions ponctuelles : activités de conseil
IP-CC	Interventions ponctuelles : conférences, colloques, actions de formation
IP-RE	Interventions ponctuelles : rapports d'expertise
IP-SC	Interventions ponctuelles : travaux scientifiques, essais, <i>etc.</i>
LD	Liens durables ou permanents
PF	Participation financière dans le capital d'une entreprise
SR	Autres liens sans rémunération (relatifs à un parent)
SR-A	Autres liens sans rémunération)
VB	Activités donnant lieu à un versement au budget d'un organisme

POUR LES EXPERTS RAPPORTEURS

NOM	Prénom	Date de déclaration des intérêts
Analyse Anses :	Rubrique de la DPI Description de l'intérêt <i>en cas de lien déclaré</i>	

	Pas de liens d'intérêt déclarés en relation avec le thème de l'expertise	
Analyse Anses :	/	
GAFFET Eric		15 janvier 2012
	Pas de liens d'intérêt déclarés en relation avec le thème de l'expertise	
Analyse Anses :	/	
MAXIMILIEN Rémy		15 janvier 2012
	Pas de liens d'intérêt déclarés en relation avec le thème de l'expertise	
Analyse Anses :	/	
NESSLANY Fabrice		23 juin 2011
	Pas de liens d'intérêt déclarés en relation avec le thème de l'expertise	
Analyse Anses :	/	

Annexe 3 : Définitions des nanomatériaux

Norme ISO/TS 80004-1 :2010

Dans cette norme, le terme nanomatériaux inclut :

- les nano objets (objets ayant au moins une de leur dimension à l'échelle nanométrique, comprise entre 1 et 100 nanomètres),
- les matériaux nano structurés (matériaux ayant leur structure interne ou leur surface interne à l'échelle nanométrique).

Commission européenne

Recommandation de la Commission Européenne du 18 octobre 2011 relative à la définition des nanomatériaux (extraits)¹³ :

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

4. Aux fins du point 2, les termes «particule», «agglomérat» et «agrégat» sont définis comme suit:

a) on entend par «particule» un minuscule fragment de matière possédant des contours physiques bien définis;

b) on entend par «agglomérat» un amas friable de particules ou d'aggrégats dont la surface externe globale correspond à la somme des surfaces de ses constituants individuels;

c) on entend par «agrégat» une particule constituée de particules soudées ou fusionnées.

Décret français sur la déclaration obligatoire des substances à l'état nanoparticulaire

Décret n° 2012-232 du 17 février 2012 relatif à la déclaration annuelle des substances à l'état nanoparticulaire pris en application de l'article L. 523-4 du code de l'environnement (extrait)¹⁴ :

Article 2

Il est ajouté à la suite du chapitre III du titre II du livre V du code de l'environnement le chapitre IV suivant :

¹³ <http://eur-lex.europa.eu/LexUriServ/LexUriServ.do?uri=OJ:L:2011:275:0038:0040:FR:PDF>

¹⁴ <http://www.legifrance.gouv.fr/affichTexte.do?cidTexte=JORFTEXT000025377246&dateTexte=&categorieLie n=id>

« Chapitre IV : « **Prévention des risques pour la santé et l'environnement résultant de l'exposition aux substances à l'état nanoparticulaire** »

« Substance à l'état nanoparticulaire » : substance telle que définie à l'article 3 du règlement (CE) n° 1907/2006, fabriquée intentionnellement à l'échelle nanométrique, contenant des particules, non liées ou sous forme d'agrégat ou sous forme d'agglomérat, dont une proportion minimale des particules, dans la distribution des tailles en nombre, présentent une ou plusieurs dimensions externes se situant entre 1 nm et 100 nm.

« Cette proportion minimale peut être réduite dans des cas spécifiques lorsque cela se justifie pour des raisons tenant à la protection de l'environnement, à la santé publique, à la sécurité ou à la compétitivité. Elle est précisée par un arrêté conjoint des ministres chargés de l'environnement, de l'agriculture, de la santé, du travail et de l'industrie.

« Par dérogation à cette définition, les fullerènes, les flocons de graphène et les nanotubes de carbone à paroi simple présentant une ou plusieurs dimensions externes inférieures à 1 nm sont à considérer comme des substances à l'état nanoparticulaire.

« Aux fins de cette définition, les termes "particule", "agglomérat" et "agrégat" sont définis comme suit :

« a) On entend par "particule" un fragment de matière possédant des contours physiques bien définis ;

« b) On entend par "agrégat" une particule constituée de particules fortement liées ou fusionnées ;

« c) On entend par "agglomérat" un amas de particules ou d'agréats faiblement liés dont la surface externe

globale correspond à la somme des surfaces de ses constituants individuels. »

Annexe 4 : Sources bibliographiques communes aux rapports du BfR (2009) et de l'Anses (2010)

Tableau 2 : Sources bibliographiques communes aux deux rapports

<i>Source / citations</i>	<i>Anses 2010 : Les nanomatériaux</i>	<i>BfR : Avis sur le nano-argent</i>
<p>Wijnhoven et al.(2009). Nano-silver - a review of available data and knowledge gaps in human and environmental risk assessment. <i>Nanotoxicology</i></p>	<p>« Comme le conclut Wijnhoven, l'étude des voies et l'efficacité de pénétration dans le corps reste à documenter pour le nanoAg, ainsi que, de façon plus générale, l'étude de la transposition des connaissances « micro » à l'échelle nano ». (p.71)</p> <p>« Le système immunitaire pourrait également être une autre cible des nanoparticules d'Ag ». (p.72)</p> <p>« Les effets toxiques des substances à base d'Ag sont proportionnels au taux de libération d'ions Ag libres »; « L'Ag métallique semble poser un risque minime pour la santé alors que les produits contenant de l'Ag soluble sont plus facilement absorbés et peuvent induire des effets indésirables»; «De la même façon, les NP d'Ag ont des propriétés antibiotiques, antifongiques, antivirales et anti-inflammatoires et sont actuellement utilisées dans des crèmes, des textiles, des produits topiques, des prothèses chirurgicales, etc. » (p.163)</p>	<p>(Uniquement cité dans les sources bibliographiques ; aucune référence dans le texte)</p>
<p>Lok et al (2007). Silver nanoparticles: partial oxidation and antibacterial activities. <i>J Biol Inorg. Chem</i></p>	<p>« Les multiples facteurs abiotiques présents dans ces environnements, la salinité notamment, pourraient diminuer l'activité antibactérienne des nanoparticules d'Ag. » (p.76-Milieus complexes)</p>	<p>« Lok et al.² ont montré à l'exemple du nano-argent partiellement oxydé que l'effet bactéricide était généré par de très petites particules (1-12 nm) en concentration suffisamment forte. Bien que les concentrations données dans la publication pour le nano-argent ne soient pas vérifiables, il en ressort clairement une baisse drastique de l'effet bactéricide pour les particules de nano-argent partiellement oxydées qui font plus de 12 nm. »</p>
<p>Pal et al (2007). Does the antibacterial activity of silver nanoparticles depend on the shape of the</p>	<p>« L'anion super-oxyde généré à la surface des nanoparticules d'AG ou l'ion d'Ag⁺ issu de la dissolution partielle de nanoparticules d'argent pourraient être</p>	<p>« Il est scientifiquement prouvé que les différents facteurs physico-chimiques influencent fortement les propriétés toxicologiques des</p>

<p>nanoparticle ? A study of the Gram-negative bacterium <i>Escherichia coli</i>. <i>Appl Environ Microbiol</i></p>	<p>responsable des activités bactéricides. » (p.74)</p>	<p>nanomatériaux. Ainsi, l'effet bactéricide de l'argent nanoparticulaire dépend de la concentration, de la forme (sphère, bâton, dès, filandreux, irrégulier, nanofilm) ainsi que de la réactivité de surface³ ; »</p>
<p>Chopra et al (2007). The increasing use of silver-based products as antimicrobial agents: a useful development or a cause for concern? <i>J Antimicrob. Chemother.</i></p>	<p>« Le développement de la résistance bactérienne à l'argent, au même titre que leur résistance aux antibiotiques, doit être pris en considération. A l'heure actuelle, même si les mécanismes génétiques de la résistance bactérienne à l'argent ne sont pas encore complètement élucidés, en raison des nombreux mécanismes par lesquels l'argent affecte les bactéries, [...]. » (p.74)</p>	<p>« Chopra <i>et al.</i> (2007) ont également trouvé que le plasmide de résistance à l'argent ne se transmet et ne s'établit que rarement dans les espèces¹⁴. La résistance n'est en outre conservée qu'en présence d'ions argent (40 ppm). Chopra n'indique jusqu'à présent que 20 cas attestés de résistance à l'argent qui soient importants au plan clinique. »</p> <p>« Comme les ions argent se fixent de manière efficace par liaison aux ions chlorure, phosphate et sulfate, l'argent ne devrait être utilisé en tant qu'agent antimicrobien que sous une forme dans laquelle il est libéré en continu en quantité suffisante (valeur CMI). Dans les pansements à effet bactéricide, un taux de libération de l'argent cationique d'au moins 70-100 ppm est recommandé. »</p>
<p>Morones et al (2005). The bactericidal effect of silver nanoparticles. <i>Nanotechnology</i></p>	<p>« Chez <i>E. Coli</i> et <i>P. aeruginosa</i> une internalisation de nanoparticules inférieures à 10 nm a été montré. » (p.74)</p>	<p>« Une action bactéricide fiable par le biais de l'argent peut avoir lieu rien que par le contact direct avec le nanomatériau, sans formulation adaptée pour l'amélioration de la libération²². Les produits qui n'atteignent pas un taux de libération d'ions argent suffisamment haut pourraient entraîner le développement d'une résistance. »</p>

Annexe 5 : Sources bibliographiques des trois rapports relatives aux chapitres « nanoparticules d'argent »

Afssa (2009)

Kim, Y. S., et al. (2008). Twenty-eight-day oral toxicity, genotoxicity, and gender-related tissue distribution of silver nanoparticles in Sprague-Dawley rats. *Inhal Toxicol* 20 (6): 575-83.

Afsset (2010)

Tableau 3 : Sources bibliographiques du rapport de l'Afsset (2010) spécifiques à l'évaluation des risques du nano-argent

Thème	Référence Bibliographique	P.
Généralités	Benn T.M., Westerhoff P. (2008). Nanoparticle Silver Released into Water from Commercially Available Sock Fabrics. <i>Environ. Sci. Technol.</i> ; 42(11):4133-9.	65 ; 66 ; 67 ; 68
	Borm P.J., Berube D. (2008). A tale of opportunities, uncertainties, and risks. <i>Nano Today</i> ; 3(1-2):56-9.	67
	Brett D.W. (2006). A discussion of silver as an antimicrobial agent: alleviating the confusion. <i>Ostomy Wound Manage.</i> ; 52(1):34-41.	74
	Chen X., Schluesener H.J. (2008). Nanosilver: A nanoproduct in medical application. <i>Toxicol. Lett.</i> ; 176(1):1-12.	164
	Chopra I. (2007). The increasing use of silver-based products as antimicrobial agents: a useful development or a cause for concern? <i>J. Antimicrob. Chemother.</i> ; 59(4):587-90.	74
	de Jalon E.G., Blanco-Preto M.J., Ygartua P. <i>et al.</i> (2001). PLGA microparticles: possible vehicles for topical drug delivery. <i>Int J Pharm</i> ; 226(1-2):181-4.	164
	DEFRA. (2009). Report on Nanosilver. London: DEFRA.	72
	Drake P.L., Hazelwood K.J. (2005). Exposure-Related Health Effects of Silver and Silver Compounds: A Review. <i>Ann. Occup. Hyg.</i> ; 49(7):575-85.	163
	Geranio L., Heuberger M., Nowack B. (2009). The Behavior of Silver Nanotextiles during Washing. <i>Environ. Sci. Technol.</i> ; 43(21):8113-8.	65 ; 66 ; 67 ; 68

	Kirsch-Volders M., Elhajouji A., Cundari E. <i>et al.</i> (1997). The in vitro micronucleus test: a multi-endpoint assay to detect simultaneously mitotic delay, apoptosis, chromosome breakage, chromosome loss and non-disjunction. <i>Mutat. Res.</i> ; 392(1-2):19-30.	168
	Kumar R., Münstedt H. (2005). Silver ion release from antimicrobial polyamide/silver composites. <i>Biomaterials</i> ; 26(14):2081-8.	74
	Lansdown A.B.G. (2006). Silver in health care: antimicrobial effects and safety in use. <i>Curr.Probl. Dermatol.</i> ; 33:17-34.	163
	Luoma S.N. (2008). Silver Nanotechnologies and the Environment: Old Problems or New Challenges? Washington, DC: The Pew Charitable Trusts. 66 p.	67 ; 73
	Olive P.L., Banath J.P., Durand R.E. (1990). Heterogeneity in radiation-induced DNA damage and repair in tumor and normal cells measured using the "comet" assay. <i>Radiat. Res.</i> ; 122(1):86-94.	169
	Ostling O., Johanson K.J. (1984). Microelectrophoretic study of radiation-induced DNA damages in individual mammalian cells. <i>Biochem. Biophys. Res. Commun.</i> ; 123(1):291-8.	169
	Raveendran P., Fu J., Wallen S.L. (2003). Completely "Green" Synthesis and Stabilization of Metal Nanoparticles. <i>J. Am. Chem. Soc.</i> ; 125(46):13940-1.	169
	Wijnhoven S.W.P., Peijnenburg W.J.G.M., Herberts C.A. <i>et al.</i> (2009). Nano-silver a review of available data and knowledge gaps in human and environmental risk assessment. <i>Nanotoxicology</i> ; 3(2):109.	71 ; 72 ; 163
Toxicologie	Ahamed M., Karns M., Goodson M. <i>et al.</i> (2008). DNA damage response to different surface chemistry of silver nanoparticles in mammalian cells. <i>Toxicol. Appl. Pharmacol.</i> ; 233(3):404-10.	170 ; 171 ; 181
	Akdim B., Hussain S., Pachter R. (2008). A Density Functional Theory Study of Oxygen Adsorption at Silver Surfaces: Implications for Nanotoxicity. <i>Proceedings of the 8th international conference on Computational Science, Part II. Lect. Notes Comput. Sci.</i> ; 5102:353-9.	73
	Arora S., Jain J., Rajwade J.M. <i>et al.</i> (2008). Cellular responses induced by silver nanoparticles: In vitro studies. <i>Toxicol. Lett.</i> ; 179(2):93-100.	70 ; 173 ; 174
	Arora S., Jain J., Rajwade J.M. <i>et al.</i> (2009). Interactions of silver nanoparticles with primary mouse fibroblasts and liver cells. <i>Toxicol. Appl. Pharmacol.</i> ; 236(3):310-8.	70 ; 173 ; 174 ; 175 ; 181
	Asharani P.V., Low Kah Mun G., Hande M.P. <i>et al.</i> (2009). Cytotoxicity and genotoxicity of silver nanoparticles in human cells. <i>ACS Nano</i> ; 3(2):279-90. *	70 ; 75 ; 168 ; 169 ; 170 ; 178
	Asharani P.V., Low Kah Mun G., Hande M.P. <i>et al.</i> (2009). Cytotoxicity and genotoxicity of silver nanoparticles in human cells. <i>ACS Nano</i> ; 3(2):279-90. *	70 ; 75 ; 168 ; 169 ; 170 ; 178

Auffan M.A., Rose J.Á., Wiesner M.R. <i>et al.</i> (2009). Chemical stability of metallic nanoparticles: A parameter controlling their potential cellular toxicity in vitro. <i>Environ. Pollut.</i> ; 157(4):1127-33.	75
Bar-Ilan O., Albrecht R.M., Fako V.E. <i>et al.</i> (2009). Toxicity assessments of multisized gold and silver nanoparticles in zebrafish embryos. <i>Small</i> ; 5(16):897-910.	75
Barrena R., Casals E., Colon J. <i>et al.</i> (2009). Evaluation of the ecotoxicity of model nanoparticles. <i>Chemosphere</i> ; 75(7):850-7.	74
Bielmyer G.K., Brix K.V., Grosell M. (2008). Is Cl ⁻ protection against silver toxicity due to chemical speciation? <i>Aquat. Toxicol.</i> ; 87(2):81-7.	76
Blaser S.A., Scheringer M., Macleod M. <i>et al.</i> (2008). Estimation of cumulative aquatic exposure and risk due to silver: contribution of nano-functionalized plastics and textiles. <i>Sci.Total Environ.</i> ; 390(2-3):396-409.	66 ; 73 ; 74
Bradford A., Handy R.D., Readman J.W. <i>et al.</i> (2009). Impact of silver nanoparticle contamination on the genetic diversity of natural bacterial assemblages in estuarine sediments. <i>Environ.Sci.Technol.</i> ;43(12):4530-6.	76
Braydich-Stolle L., Hussain S., Schlager J.J. <i>et al.</i> (2005). In vitro cytotoxicity of nanoparticles in mammalian germline stem cells. <i>Toxicol. Sci.</i> ; 88(2):412-9.	172 ; 173 ; 181
Cha K., Hong H.W., Choi Y.G. <i>et al.</i> (2008). Comparison of acute responses of mice livers to short-term exposure to nano-sized or micro-sized silver particles. <i>Biotechnol. Lett.</i> ; 30(11):1893-9.	181
Chae Y.J., Pham C.H., Lee J. <i>et al.</i> (2009). Evaluation of the toxic impact of silver nanoparticles on Japanese medaka (<i>Oryzias latipes</i>). <i>Aquat. Toxicol.</i> ; 94(4):320-7.	75
Filon F.L., D'Agostin F., Crosera M. <i>et al.</i> (2007). [In vitro percutaneous absorption of silver nanoparticles]. <i>G. Ital. Med. Lav. Ergon.</i> ; 29(3 Suppl):451-2.	69 ; 165
Franz T.J. (1975). Percutaneous absorption on the relevance of in vitro data. <i>J. Invest.Dermatol.</i> ; 64(3):190-5.	164
Hsin Y.H., Chen C.F., Huang S. <i>et al.</i> (2008). The apoptotic effect of nanosilver is mediated by a ROS- and JNK-dependent mechanism involving the mitochondrial pathway in NIH3T3 cells. <i>Toxicol. Lett.</i> ; 179(3):130-9.	70 ; 175 ; 177 ; 181
Hussain S.M., Hess K.L., Gearhart J.M. <i>et al.</i> (2005). In vitro toxicity of nanoparticles in BRL 3A rat liver cells. <i>Toxicol. In Vitro</i> ; 19(7):975-83.	70 ; 171 ; 181
Hwang E.T., Lee J.H., Chae Y.J. <i>et al.</i> (2008). Analysis of the Toxic Mode of Action of Silver Nanoparticles Using Stress-Specific Bioluminescent Bacteria. <i>Small</i> ; 4(6):746-50.	74
Ji J.H., Jung J.H., Kim S.S. <i>et al.</i> (2007a). Twenty-eight-day inhalation toxicity study of silver nanoparticles in Sprague-Dawley rats. <i>Inhal. Toxicol.</i> ; 19(10):857-71.	166

Ji J.H., Jung J.H., Yu I.J. <i>et al.</i> (2007b). Long-Term Stability Characteristics of Metal Nanoparticle Generator Using Small Ceramic Heater for Inhalation Toxicity Studies. <i>Inhal.Toxicol.</i> ; 19(9):745.	166
Kim S., Choi J.E., Choi J. <i>et al.</i> (2009). Oxidative stress-dependent toxicity of silver nanoparticles in human hepatoma cells. <i>Toxicol. In Vitro</i> ; 23(6):1076-84.	170 ; 179 ; 181
Kim Y.S., Kim J.S., Cho H.S. <i>et al.</i> (2008). Twenty-Eight-Day Oral Toxicity, Genotoxicity, and Gender-Related Tissue Distribution of Silver Nanoparticles in Sprague-Dawley Rats. <i>Inhal. Toxicol.</i> ; 20(6):575.	69 ; 72 ; 74 ; 166 ; 168 ; 171
Kumari M., Mukherjee A., Chandrasekaran N. (2009). Genotoxicity of silver nanoparticles in <i>Allium cepa</i> . <i>Sci. Total Environ.</i> ; 407(19):5243-6.	74
Larese F.F., D'Agostin F., Crosera M. <i>et al.</i> (2009). Human skin penetration of silver nanoparticles through intact and damaged skin. <i>Toxicology</i> ; 255(1-2):33-7.	69 ; 70 ; 164 ; 165
Lee S.W., Kim S.M., Choi J. (2009). Genotoxicity and ecotoxicity assays using the freshwater crustacean <i>Daphnia magna</i> and the larva of the aquatic midge <i>Chironomus riparius</i> to screen the ecological risks of nanoparticle exposure. <i>Environ. Toxicol. Pharmacol.</i> ; 28(1):86-91.	75
Lee S.W., Kim S.M., Choi J. (2009). Genotoxicity and ecotoxicity assays using the freshwater crustacean <i>Daphnia magna</i> and the larva of the aquatic midge <i>Chironomus riparius</i> to screen the ecological risks of nanoparticle exposure. <i>Environ. Toxicol. Pharmacol.</i> ; 28(1):86-91.	75
Matson C.W., Auffan M. (2009). Silver nanoparticle behavior and fish embryotoxicity across a salinity gradient: International Conference on the Environmental Implications of NanoTechnology CEINT.	75
Miao A.J., Schwehr K.A., Xu C. <i>et al.</i> (2009). The algal toxicity of silver engineered nanoparticles and detoxification by exopolymeric substances. <i>Environ. Pollut.</i> ; 157(11):3034-41	75
Mueller N.C., Nowack B. (2008). Exposure modeling of engineered nanoparticles in the environment. <i>Environ. Sci. Technol.</i> ; 42(12):4447-53.	67 ; 73
Navarro E., Piccapietra F., Wagner B. <i>et al.</i> (2008). Toxicity of silver nanoparticles to <i>Chlamydomonas reinhardtii</i> . <i>Environ. Sci. Technol.</i> ; 42(23):8959-64.	74
Nichols J.W., Brown S., Wood C.M. <i>et al.</i> (2006). Influence of salinity and organic matter on silver accumulation in Gulf toadfish (<i>Opsanus beta</i>). <i>Aquat. Toxicol.</i> ; 78(3):253-61.	76
Nowack B. (2009). The behavior and effects of nanoparticles in the environment. <i>Environ.Pollut.</i> ; 157(4):1063-4.	67
Roh J.Y., Sim S.J., Yi J. <i>et al.</i> (2009). Ecotoxicity of Silver Nanoparticles on the Soil Nematode <i>Caenorhabditis elegans</i> Using Functional Ecotoxicogenomics. <i>Environ. Sci. Technol.</i> ; 43(10):3933-40.	76
Singh N., Manshian B., Jenkins G.J.S. <i>et al.</i> (2009). NanoGenotoxicology: the DNA damaging potential of engineered nanomaterials. <i>Biomaterials</i> ; 30(23-24):3891-914.	169

	Sung J.H., Ji J.H., Park J.D. <i>et al.</i> (2009). Subchronic Inhalation Toxicity of Silver Nanoparticles. <i>Toxicol. Sci.</i> ; 108(2):452-61.	166
	Sung J.H., Ji J.H., Yoon J.U. <i>et al.</i> (2008). Lung function changes in Sprague-Dawley rats after prolonged inhalation exposure to silver nanoparticles. <i>Inhal. Toxicol.</i> ; 20(6):567-74.	166
	Tiede K., Hassellöv M., Breitbarth E. <i>et al.</i> (2009). Considerations for environmental fate and ecotoxicity testing to support environmental risk assessments for engineered nanoparticles. <i>J. Chromatogr. A</i> ; 1216(3):503-9.	73
	Trop M. (2006). Silver-coated dressing acticoat caused raised liver enzymes and argyria-like symptoms in burn patient. <i>J. Trauma</i> ; 61(4):1024.	165
	Vlachou E., Chipp E., Shale E. <i>et al.</i> (2007). The safety of nanocrystalline silver dressings on burns: a study of systemic silver absorption. <i>Burns</i> ; 33(8):979-85.	165
Action antibactérienne	Carlson C., Hussain S.M., Schrand A.M. <i>et al.</i> (2008). Unique cellular interaction of silver nanoparticles: size-dependent generation of reactive oxygen species. <i>J. Phys. Chem. B</i> ; 112(43):13608-19.	70 ; 177 ; 178 ; 181
	Choi O., Deng K.K., Kim N.J. <i>et al.</i> (2008). The inhibitory effects of silver nanoparticles, silver ions, and silver chloride colloids on microbial growth. <i>Water Res.</i> ; 42(12):3066-74.	74
	Kim J.S., Kuk E., Yu K.N. <i>et al.</i> (2007). Antimicrobial effects of silver nanoparticles. <i>Nanomedicine</i> ; 3(1):95-101.	74
	Morones J.R., Elechiguerra J.L., Camacho A. <i>et al.</i> (2005). The bactericidal effect of silver nanoparticles. <i>Nanotechnology</i> ; 16(10):2346-53.	74
	Pal S., Tak Y.K., Song J.M. (2007). Does the Antibacterial Activity of Silver Nanoparticles Depend on the Shape of the Nanoparticle? A Study of the Gram-Negative Bacterium <i>Escherichia coli</i> . <i>Appl. Environ. Microbiol.</i> ; 73(6):1712-20.	74
	Su H.L., Chou C.C., Hung D.J. <i>et al.</i> (2009). The disruption of bacterial membrane integrity through ROS generation induced by nanohybrids of silver and clay. <i>Biomaterials</i> ; 30(30):5979-87.	74
	Lok C.N., Ho C.M., Chen R. <i>et al.</i> (2007). Silver nanoparticles: partial oxidation and antibacterial activities. <i>J. Biol. Inorg. Chem.</i> ; 12(4):527-34.	76
	Yoon K.Y., Hoon Byeon J., Park J.H. <i>et al.</i> (2007). Susceptibility constants of <i>Escherichia coli</i> and <i>Bacillus subtilis</i> to silver and copper nanoparticles. <i>Sci. Total Environ.</i> ; 373(2-3):572-5.	76
Bactériorésistance	Aarestrup F.M., Kruse H., Tast E. <i>et al.</i> (2000). Associations between the use of antimicrobial agents or growth promotion and the occurrence of resistance among <i>Enterococcus faecium</i> from broilers and pigs in Denmark, Finland, and Norway. <i>Microb. Drug Resist.</i> ; 6(1):63-70.	76
	Berg J., Tom-Petersen A., Nybroe O. (2005). Copper amendment of agricultural soil selects for bacterial antibiotic resistance in the field. <i>Lett. Appl. Microbiol.</i> ; 40(2):146-51.	76

	Goni-Urriza M., Capdepuuy M., Arpin C. <i>et al.</i> (2000). Impact of an urban effluent on antibiotic resistance of riverine Enterobacteriaceae and <i>Aeromonas</i> spp. <i>Appl. Environ. Microbiol.</i> ; 66(1):125-32.	76
	Mühling M., Bradford A., Readman J.W. <i>et al.</i> (2009). An investigation into the effects of silver nanoparticles on antibiotic resistance of naturally occurring bacteria in an estuarine sediment. <i>Marine Environ. Res.</i> ; 68(5):278-83.	73

BfR (2009)

Tableau 4 : sources bibliographiques du rapport du BfR (2009)

Thème	Référence Bibliographique
Généralité	Chopra, I. (2007). The increasing use of silver-based products as antimicrobial agents: a useful development or a cause for concern? <i>J Antimicrob. Chemother.</i> 59 , 587-590.
	Edwards-Jones, V. (2009). The benefits of silver in hygiene, personal care and healthcare. <i>Lett Appl Microbiol</i> 49 , 147-152.
	Wijnhoven, S. W. P., Peijnenburg, W. J. G. M., Herberths, C. A., Hagens, W. I., Oomen, A. G., Heugens, E. H. W., Roszek, B., Bisschops, J., Gosens, I., Van De Meent, D., Dekkers, S., De Jong, W. H., van Zijverden, M., Sips, A. n. J. A. M. & Geertsma, R. E. (2009). Nano-silver - a review of available data and knowledge gaps in human and environmental risk assessment. <i>Nanotoxicology</i> 3 , 109-138.
Toxicologie	Drasch, G., Gath, H. J., Heissler, E., Schupp, I. & Roeder, G. (1995). Silver concentrations in human tissues. Their dependence on dental amalgam and other factors. <i>J Trace Elem. Med Biol</i> 9 , 82-87.
	Pelkonen, K. H., Heinonen-Tanski, H. & Hanninen, O. O. (2003). Accumulation of silver from drinking water into cerebellum and musculus soleus in mice. <i>Toxicology</i> 186 , 151- 157.
Activité antibactérienne	Lok, C. N., Ho, C. M., Chen, R., He, Q. Y., Yu, W. Y., Sun, H., Tam, P. K., Chiu, J. F. & Che, C. M. (2007). Silver nanoparticles: partial oxidation and antibacterial activities. <i>J Biol Inorg. Chem</i> 12 , 527-534.
	Maple, P. A., Hamilton-Miller, J. M. & Brumfitt, W. (1992). Comparison of the in-vitro activities of the topical antimicrobials azelaic acid, nitrofurazone, silver sulphadiazine and mupirocin against methicillin-resistant <i>Staphylococcus aureus</i> . <i>J Antimicrob. Chemother.</i> 29 , 661-668.
	Morones, J. R., Elechiguerra, J. L., Camacho, A., Holt, K., Kouri, J. B., Ramirez, J. T. & Yacaman, M. J. (2005). The bactericidal effect of silver nanoparticles. <i>Nanotechnology</i> 16 , 2346-2353.
	Pal, S., Tak, Y. K. & Song, J. M. (2007). Does the antibacterial activity of silver nanoparticles depend on the shape of the nanoparticle? A study of the Gram-negative bacterium <i>Escherichia coli</i> . <i>Appl Environ Microbiol</i> 73 , 1712-1720.
Résistance bactérienne	Gupta, A., Maynes, M. & Silver, S. (1998). Effects of halides on plasmid-mediated silver resistance in <i>Escherichia coli</i> . <i>Appl Environ Microbiol</i> 64 , 5042-5045.
	Annear, D. I., Mee, B.J. & Bailey, M. (1976). Instability and linkage of silver resistance, lactose fermentation, and colony structure in Enterobacter Cloacae from burn wounds. <i>J. Clin Pathol</i> 29 , 441-443
	Bridges, K., Kidson, A., Lowbury, E. J. & Wilkins, M. D. (1979). Gentamicin- and silverresistant <i>Pseudomonas</i> in a burns unit. <i>Br Med J</i> 1 , 446-449.

Thème	Référence Bibliographique
	Deshpande, L. M. & Chopade, B. A. (1994). Plasmid mediated silver resistance in <i>Acinetobacter baumannii</i> . <i>Biometals</i> 7 , 49-56.
	Gupta, A., Matsui, K., Lo, J. F. & Silver, S. (1999). Molecular basis for resistance to silver cations in <i>Salmonella</i> . <i>Nat Med</i> 5 , 183-188.
	Gupta, A., Phung, L. T., Taylor, D. E. & Silver, S. (2001). Diversity of silver resistance genes in IncH incompatibility group plasmids. <i>Microbiology</i> 147 , 3393-3402.
	Ip, M., Lui, S. L., Chau, S. S., Lung, I. & Burd, A. (2006). The prevalence of resistance to silver in a Burns unit. <i>J Hosp Infect</i> 63 , 342-344.
	Li, X. Z., Nikaido, H. & Williams, K. E. (1997). Silver-resistant mutants of <i>Escherichia coli</i> display active efflux of Ag ⁺ and are deficient in porins. <i>J Bacteriol.</i> 179 , 6127-6132.
	Loh, J.V., Percival, S.L., Woods, E.J., Williams, N.J. & Cochrane, C. A. (2009). Silver resistance in MRSA isolated from wound and nasal sources in humans and animals. <i>Int Wound. J</i> 6 , 32-38.
	McHugh, G. L., Moellering, R. C., Hopkins, C. C. & Swartz, M. N. (1975). <i>Salmonella typhimurium</i> resistant to silver nitrate, chloramphenicol, and ampicillin. <i>Lancet</i> 1 , 235- 240.
	Percival, S. L., Bowler, P. G. & Russell, D. (2005). Bacterial resistance to silver in wound care. <i>J Hosp Infect</i> 60 , 1-7.
	Silver, S. (2003). Bacterial silver resistance: molecular biology and uses and misuses of silver compounds. <i>FEMS Microbiol Rev</i> 27 , 341-353.
	Woods, E. J., Cochrane, C. A. & Percival, S. L. (2009). Prevalence of silver resistance genes in bacteria isolated from human and horse wounds. <i>Vet Microbiol</i> 138 , 325-329.
Additifs alimentaires/Réglémentation	Nordic Council of Ministers (2002). Food Additives in Europe 2000 - Status of safety assessments of food additives presently permitted in the EU.
	Scientific Committee for Food (SCF) (1975). Commission of the European Communities. Reports of the Scientific Committee for Food. First series. Report of the Scientific Committee for Food on the revision of the directive on colouring matters authorized for use in foodstuffs intended for human consumption. <i>Opinion expressed 27 June 1975</i> .
	Bundesrat (2007). Antrag des Landes Hessen. Zweite Verordnung zur Änderung zuzatzstoffrechtlicher Vorschriften. <i>Drucksache 285/1/07</i> .
	Scientific Committee for Food (SCF) (1983). Commission of the European Communities. Reports of the Scientific Committee for Food. Fourteenth series. Report of the Scientific Committee for Food on colouring matters authorized for use in foodstuffs intended for human consumption. <i>Opinion expressed 7 July 1983</i> .
	World Health Organization (WHO) (1977). Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives (JECFA) Geneva, 18-27 April 1977. Summary of toxicological data of certain food additives. <i>WHO Food Additives Series 12</i> .
	World Health Organization (WHO) (1978). Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives (JECFA) Geneva, 18-27 April 1977. Evaluation of certain food additives (Twenty-first report of the Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives). WHO Technical Report Series 617.

Notes
