

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية
وزارة التعليم العالي و البحث العلمي

REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE
MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE

UNIVERSITE 8 MAI 1945 GUELMA
FACULTE DES SCIENCES DE LA NATURE ET DE LA VIE ET SCIENCES DE LA TERRE ET DE
L'UNIVERS
DEPARTEMENT DE BIOLOGIE



Mémoire de Master

Domaine : Sciences de la Nature et de la Vie

Filière : Biologie

Spécialité/Option : Qualité des produits et Sécurité Alimentaire

Thème : L'évaluation du potentiel génotoxique des nanoparticules (cas SiO₂) par une approche prédictive (Relation Quantitative Structure-Activité-QSAR)

Présenté par :

BOUABID Amel

CHIBANI Warda

YAHY Amina

Devant le jury composé de :

Président (e) : Dr. AISSAOUI Ryad

M.C.B

Université de Guelma

Examineur : Dr. GRARA Noudjoud

M.C.A

Université de Guelma

Encadreur : Dr. DJEKOUN Mohamed

M.C.B

Université de Guelma

Juin2014

Remerciement

*Avant tout nous remercions le « **Dieu** » qui nous a montré le droit chemin, qui nous emmené à ce stade éducatif.*

Comme toute thèse, cette recherche a été ponctuée de nombreux moments d'enthousiasme et de joie, mais également de nombreuses périodes de doute et de découragement. L'achèvement de ce travail n'aurait pas été possible sans la précieuse contribution de nombreuses personnes que je veux remercier ici.

*Nous tenons à exprimer nos plus vives reconnaissances à notre Directeur de Recherche, Monsieur le Professeur **DJEKOUN MOHAMED**, sans lui ce travail n'aurait pas été possible. ses capacités scientifiques et ses compétences étaient notre grand support. Notre projet sous sa direction était pour nous un grand honneur et un immense bonheur. Nous le remercions très sincèrement pour la confiance qu'il nous' a accordé en acceptant de diriger cette recherche. Par son soutien, sa disponibilité, ses précieux conseils, il nous' a permis d'accomplir ce travail. Enfin, nous tenons à le remercier pour ses qualités humaines d'écoute et son soutien moral pendant les moments difficiles.*

Nous tenons à remercier spécialement les membres du jury qui ont pris sue leur temps et aménager leur volonté pour examiner et porter une analyse critique sur notre travail.

*Nos remerciements vont également à Melle **Besma** pour son aide précieuse*

Nous souhaitons adresser nos sincères remerciements à tous ceux qui nous ont apporté de près ou de loin, aides et conseils lors de l'élaboration de cette recherche de fin d'étude.

*Nous ne pouvons pas terminer ces remerciement sans avoir une pensés pour nos **familles** pour le soutien moral qu'elles nous ont porté*

Liste des figures

N° : Figure	Titres	Pages
Fig : 01	Positionnement de la taille des nanoparticules sur l'échelle du vivant	1
Fig : 02	Illustration du cycle de vie des nanoparticules et des risques engendrés	4
Fig : 03	Voies d'exposition de l'homme aux nanoparticules	6
Fig : 04	Contamination et devenir des nanoparticules dans l'environnement	7
Fig : 05	L'interface de QSAR	15
Fig : 06	Les six modules de QSAR toolbox	15
Fig : 07	Module Chemical Input avec l'identité de la substance cible	16
Fig : 08	Les différentes méthodes de profilage	17
Fig : 09	Les données du devenir dans l'environnement, de la toxicité	17
Fig : 10	Les méthodes de regroupement des produits chimiques	18
Fig : 11	Les trois différents outils des données de remplissage des lacunes	19
Fig : 12	Le rapport	20
Fig : 13	Agglomérat de nanoparticules de dioxyde de silicium	23
Fig : 14	Structure chimique de silicium	24
Fig : 15	Les différents produits de consommation	25
Fig : 16	Évaluation de la toxicité de la cible chimique par la méthode de cramer	26
Fig : 17	Test d'Ames	28
Fig : 18	Formation de micronoyaux	29
Fig : 19	Classification de la toxicité de SiO ₂ par la méthode de Cramer	31
Fig : 20	Descripteur (log P) de prédiction sur la base de test (Aberration chromosomique)	32
Fig : 21	Descripteur (log P) de prédiction sur la base de test (mutation génique)	32

Liste des tableaux

N°:Tableaux	Titres	Pages
Tab : 01	Évolution des propriétés des particules à l'échelle nanométrique	2
Tab : 02	Applications visées par l'utilisation de nanomatériaux	3
Tab : 03	Descriptif de nanoparticule dioxyde de silicium	24

Liste des abréviations

ADN : Acide désoxyribonucléique.

ASNM: Agence Nationale de Sécurité du Médicament et de produits de la santé.

C_{H_2O} : Concentration du soluté dans l'eau.

$C_{octanol}$: Concentration du soluté dans l'octanol.

CE: Communauté Européenne.

D: Démontion.

ECHA: L'Agence Européenne des Produits Chimiques.

E551: Additif Alimentaire Appelé Oxyde de silicium.

E552: Additif Alimentaire Appelé Silicate de calcium.

E559: Additif Alimentaire Appelé Silicate d'aluminium.

f : fonction.

$g \cdot l^{-1}$: Gramme par litre.

g/mol : Gramme par mol.

His⁻: Histidine moins.

His⁺: Histidine plus.

Les 3R : Remplacement, Réduction et Raffinement.

log Kow (logP): le coefficient de Partage octanol/eau

m : mètre.

N°CAS: Number of Chemical Abstracts Service.

NM : Nanomatériaux.

Nm : Nanomètres.

NP : Nanoparticule.

NTC: Nanotube de Carbone.

OCDE: Organisation de Coopération et de Développement Economiques.

PBPK: Physiologically Based Pharmacokinetic.

QSAR: Quantitative Structure Activity Relationship.

REACH: Registration Evaluation Authorization and Restriction of Chemicals.

ROS: Radical Oxygen Species.

SiOH: Silanols.

SiO₂: Dioxyde de Silicium.

Si-O-Si : ponts de type Siloxane.

SMILES : Système Simplifié Moléculaire Entrée de l'Information en Ligne.

S. typhimurium : Salmonella typhimurium

TiO₂:Dioxyde de Titane.

T°: Température.

UE: Union Européenne.

UV: Rayonnement Ultraviolet.

°C: Degré Celsius.

Sommaire

Liste des figures	
Liste des tableaux	
Liste des abréviations	
Introduction	

CHAPITRE I : LES NANOPARTICULES

	Page
1. Les nanoparticules.....	1
1.1. Définition.....	1
1.2. Les sources de nanoparticules.....	2
1.3. Propriétés physicochimiques des nanoparticules.....	2
1.4. Domaines d'utilisation.....	2
1.5. Risques potentiels des nanotechnologies.....	3
1.5.1 Bases d'une réflexion scientifique.....	3
1.5.2. Effets des nanoparticules sur l'Homme.....	4
1.5.2.1. Voies d'entrée dans l'organisme.....	4
1.5.3. Effets des nanoparticules sur l'environnement.....	6
2. Le règlement REACH.....	8
2.1. Le principe du règlement REACH.....	9
2. 2. Les Méthodes alternatives.....	9
2.2.1. Les « 3R » : principes éthiques de l'expérimentation animale.....	9
2.3. Qu'appelle-t-on « méthodes alternatives » ?.....	10
2.3.1. Les méthodes de substitution.....	10
2.3.2. Les méthodes de réduction	10

2.3.3. Les méthodes de raffinement.	10
2.4. Les méthodes <i>in silico</i>	11
2.4.1. Les avantages des méthodes <i>in silico</i>	11
2.4.1.1. Réduire les tests sur les animaux.....	11
2.4.1.2. Réduire les coûts et les délais.....	11
2.4.1.3. Permettre de tester un grand nombre de substances chimiques.....	11
2.4.1.4. Augmenter la qualité des informations.....	12

CHAPITRE II : LES MODELES QSAR (QUANTITATIVE STRUCTURE ACTIVITY RELATIONSHIP)

1. Généralité.....	13
2. Définition.....	13
3. QSAR ToolBox	14
3.1. L'interface de la boîte à outils (QSAR Toolbox).	14
3.2. Flux de travail.....	15
3.2.1. Entrée des produits chimiques cibles (Chemical Input).....	16
3.2.2. Profilage (Profiling).....	17
3.2.3. Critères d'évaluation (Endpoint).....	17
3.2.4. Définition de la catégorie (Category definition).....	18
3.2.5. Comblant les lacunes des données (Data Gaps Filling).....	18
3.2.6. Le rapport (Reporting).....	19
3.3. Les descripteurs moléculaires.....	20
3.3.1. Les descripteurs 1D.....	20
3.3.2. Les descripteurs 2D.....	20
3.3.2.1. Les indices constitutionnels.....	21
3.3.2.2. Les indices topologiques.....	21
3.3.3. Les descripteurs 3D.....	21

3.3.3.1. Les descripteurs géométriques.....	21
3.3.3.2. Les descripteurs électroniques.....	22
3.3.3.3. Descripteurs spectroscopiques.....	22
3.3.4. Descripteurs 4D.....	22

CHAPITRE III : MATERIEL ET METHODES

1. Matériel.....	23
1.1. Choix de substance à tester.....	23
1.2. Définition.....	23
1. 3. Les Propriétés de dioxyde de silicium.....	24
1.3.1. Propriétés structurales de dioxyde de silicium.....	24
1.3.2. Propriétés physico-chimiques de dioxyde de silicium.....	24
1.4. Domaines d'applications.....	25
2. Méthodes.....	25
2.1. Test de Cramer (Arbre de décision).....	25
2.2. Les tests de Génotoxicité.....	27
2.2.1. Test d'Ames.....	27
2.2.2. Test des micronoyaux.....	28
2.2.3. Test des aberrations chromosomiques.....	29
2.3. La mutagénicité et cancérogénicité.....	29

RESULTAT ET DISCUSSION

1. Résultats.	30
2. Discussion	33

Conclusion.

Référence bibliographique.

Résumé.

Annexe.

Une des tendances actuelles en matière de recherche scientifique est de produire des nanostructures faites d'une grande variété de matériaux et d'en comprendre les propriétés et fonctionnalités afin de développer de nouvelles technologies.

En raison de leur taille nanométrique, les nanomatériaux possèdent des propriétés physico-chimiques différentes des mêmes matériaux de plus grande taille. Ces propriétés uniques sont utilisées dans tous les domaines d'applications. Les nanotechnologies sont aujourd'hui un outil irremplaçable dans l'étude chimique, biologique et médicale du vivant.

Même si ces technologies offrent un extraordinaire potentiel, elles peuvent présenter certains dangers.

Actuellement, la recherche est plus focalisée sur les effets des nanoparticules sur la santé humaine que sur les écosystèmes. Pour évaluer leur toxicité, le règlement **REACH** (**En**registrement, **E**valuation, **A**utorisation et **R**estriktion des **P**roduits **C**himiques), devrait très prochainement s'engager dans une démarche de réglementation sur les nanomatériaux.

Les législateurs, les scientifiques et l'industrie ont convenu que les tests des substances chimiques devaient respecter les « **3R** » (l'engagement de **R**éduire, **R**affiner et **R**emplacer) chaque fois que possible, les tests sur les animaux. **REACH** fournit de ce fait des possibilités d'utiliser des méthodes alternatives d'évaluation ainsi que les données existantes. Les méthodes *in silico* constituent un grand pas en avant.

Les méthodes *in silico* se réfèrent à l'utilisation de modèles mathématiques, réalisés à l'aide d'outils informatiques, pour évaluer l'impact d'une substance sur l'organisme. Ces méthodes doivent servir à recueillir des informations suffisamment pertinentes pour réduire le recours à l'animal telles que les outils **QSAR** (**Q**uantitative **S**tructure **A**ctivity **R**elationships).

Les objectifs du présent PFE sont de trois ordres : scientifiques, méthodologique et d'amélioration des gestions.

Les objectifs scientifiques visent à améliorer la connaissance actuelle des nanoparticules et leurs effets toxiques sur la vie sanitaire et environnementale.

Les objectifs méthodologiques visent à développer de nouveaux tests fondés sur les méthodes alternatives à l'utilisation des animaux et de démontrer que ces tests sont réellement prédictifs et mieux adaptés aux questions soulevées que les tests traditionnels.

Les objectifs d'amélioration des gestions visent à exploiter les résultats de ce PFE en fournissant des recommandations destinées à améliorer la sécurité de ces nouveaux matériaux (nanoparticules).

Afin de présenter l'étude menée en ce sens, le présent manuscrit s'articule en deux parties : l'une bibliographique et l'autre est consacrée à l'application de la boîte à outil (**QSAR**).

Dans la partie bibliographique,

- Le premier chapitre est consacré à l'état d'art concernant des informations sur les nanoparticules, les méthodes alternatives et la toxicologie prédictive.
- Le deuxième chapitre est quant à lui dédié à une présentation condensée sur les modèles **Quantitative Structure Activity Relationship (QSAR : Relation Quantitative Structures/Activité)**.
- La partie d'application présente les tests d'évaluation prédictive concernant le potentiel de la génotoxicité (test d'Ames et test des micronoyaux) d'un produit chimique non testé.

Bien qu'existant depuis les années 1980, les nanosciences et nanotechnologies ont pris un réel envol depuis le début du XXIème siècle. Ces disciplines, véritables convergences entre la physique, la chimie et la biologie, étudient et mettent en pratique la conception et l'utilisation des nanoparticules.

Cependant, la communauté scientifique s'est penchée très tôt sur le sujet et commence à apporter des éléments de réponse. Dans ce chapitre seront tout d'abord donnés une définition et un descriptif des principales nanoparticules et de leurs intérêts. Les risques pour l'Homme et l'environnement seront ensuite abordés (Angélique, 2008).

1. Les nanoparticules :

1.1. Définition :

Au sens strict une nanoparticule est un assemblage d'atome dont au moins une des dimensions est dans le domaine nanométrique ($1 \text{ nm} = 10^{-9} \text{ m}$). La limite admise est inférieure à 100 nm car c'est en général l'ordre de grandeur des longueurs caractéristiques des processus physico-chimiques. En dessous de ces valeurs, les propriétés changent à cause des effets de confinement ou parce que la surface joue un rôle prépondérant (Pitkethly, 2003).

Du point de vue de la taille, les nanoparticules se situent sur l'échelle du monde vivant entre l'hélice d'ADN (3,4 nm) et un virus (100 nm) (figure 01).

On appelle nanomatériau, un matériau constitué d'un assemblage de nanoparticules.

C'est un matériau nanostructuré qui peut être obtenu par une approche ascendante (bottom-up) qui correspond à un assemblage de nanoparticules, ou par une approche descendante (top-down) qui correspond à une nanostructuration d'un matériau massif par attaque physique ou chimique (Angélique, 2008).

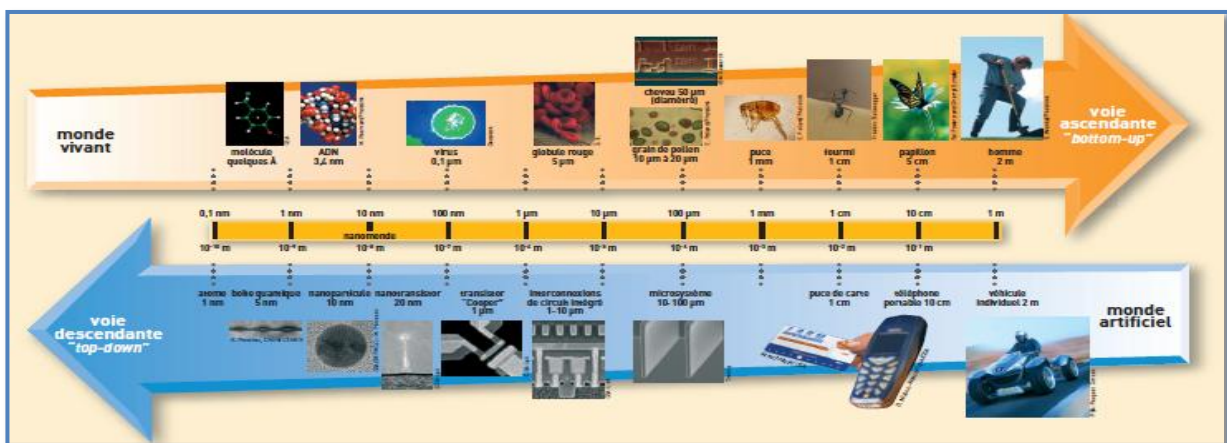


Figure 01 : Positionnement de la taille des nanoparticules sur l'échelle du vivant et des matériaux (Commissariat à l'Énergie Atomique, 2005).

1.2. Les sources des nanoparticules:

Il existe en effet différentes sources de production des nanoparticules :

- Les sources naturelles (incendies, éruptions volcaniques, ...)
- Les sources accidentelles (feux de bois, gaz d'échappement de véhicule, freinage,...)
- Les sources industrielles (nanoparticules manufacturées intentionnellement par l'homme) (Ophélie, 2008).

1.3. Propriétés physicochimiques des nanoparticules:

Les propriétés physiques et chimiques des nanomatériaux peuvent différer des propriétés du matériau en vrac correspondant en raison d'effets quantiques et de surface qui dépendent de la taille. Le tableau 01 énumère quelques propriétés pertinentes des nanoparticules (Roduner, 2006).

Tableau 01: Évolution des propriétés des particules à l'échelle nanométrique (D'après Luther, 2004).

Propriétés	Exemples
Catalytique	Efficacité catalytique élevée due au rapport surface/volume élevé.
Electrique	Augmentation de la conductivité électrique des céramiques et des nanocomposites magnétiques ; Augmentation de la résistance électrique des métaux.
Magnétique	Augmentation de la coersivité magnétique, comportement superparamagnétique.
Mécanique	Augmentation de la dureté et de la solidité des métaux et des alliages, de la ductilité et de la superélasticité des céramiques.
Optique	Changement spectral de l'absorption optique et des propriétés fluorescentes, augmentation de l'efficacité quantique des cristaux semi-conducteurs.
Stérique	Augmentation de la sélectivité Sphères creuses pour un transport spécifique de médicaments et une distribution contrôlée.
Biologique	Augmentation de la perméabilité vis-à-vis des barrières biologiques (membrane, barrière épithéliale,...), augmentation de la biocompatibilité.

1.4. Domaines d'utilisation:

Depuis les années 90, les nanoparticules sont utilisées dans de très nombreux domaines : électroniques, revêtements, textiles, articles de sports, applications pharmaceutiques, applications agroalimentaires, aéronautique, automobile, chimie, constructions, cosmétiques, optique, etc. Aujourd'hui, elles sont présentes dans plus d'un millier de produits [1]

Tableau 02: applications visées par l'utilisation de nanomatériaux (Mélanie, 2007).

Secteurs	Applications visées
Agro-alimentaires	Revêtement imperméable, Membranes pour le traitement de liquides alimentaires, Marquage pour traçabilité.
Automobile	Revêtement auto lubrifiant, anti-rayure et anticorrosion Pneu vert, Pot catalytique, Vitrage autonettoyant, hydrophobe, athermique.
Cosmétiques	Anti-UV, anti-âge, antibactérien.
Environnement	Traitement de pollutions, traitement de l'eau potable.
Santé, Pharmacie	Délivrance ciblée de médicaments, réparation et implants.
Électronique	Matériau isolant. Polissage de wafers et disques durs. Polymère nanostructuré pour électronique souple.

1.5. Risques potentiels des nanotechnologies:

1.5.1 Bases d'une réflexion scientifique:

Parmi les impacts potentiels des nanomatériaux sur le monde de demain, l'interaction avec le vivant constitue une interrogation majeure car les propriétés particulières aux nanoparticules, qui les rendent si intéressantes, peuvent potentiellement représenter un danger non négligeable pour les hommes et l'environnement. En effet, si certaines de leurs caractéristiques sont prometteuses pour le traitement de maladies ou l'élaboration de systèmes à libération contrôlée, elles pourraient avoir des impacts inattendus dans d'autres circonstances. La petite taille des nanoparticules pourrait par exemple leur permettre de pénétrer dans les tissus et passer la membrane cellulaire. Une fois dans la cellule, leurs propriétés catalytiques pourraient générer des espèces radicalaires (**ROS** : **R**adical **O**xxygen **S**pecies) et causer de sérieuses altérations dans l'ADN (ce qui constituerait un fâcheux effet secondaire de l'utilisation des crèmes solaires). Les nanoparticules sont également suspectées de pouvoir franchir la barrière hémato-encéphalique, or les conséquences de leur accumulation dans le cerveau ne sont pas encore connues. De plus, il existe un risque non négligeable de toxicité par inhalation tout particulièrement pour les personnes travaillant dans des industries fabriquant des nanoparticules. Le nez est la première barrière aux particules, malheureusement seules les plus grosses d'entre elles y sont arrêtées. Les nanoparticules ultrafines et les nanotubes de carbone pourraient donc s'accumuler dans les poumons et y provoquer des effets délétères comparables à ceux observés dans le cas de l'amiante. En ce qui concerne l'environnement, la libération incontrôlée de

nanoparticules (ex : combustion des fiouls, ruissellement des nanoparticules utilisées dans les façades autonettoyantes) pourrait avoir de graves conséquences environnementales. Certaines nanoparticules sont même envisagées pour des utilisations en dépollution par exemple pour le piégeage des halogénures, arsenic, mercure, etc. (Elliott and Zhang, 2001 ; Tratnyek and Johnson, 2006), leur présence dans l'environnement, notamment aquatique, ne serait donc pas anecdotique (Figure 02) (Ophélie, 2008).

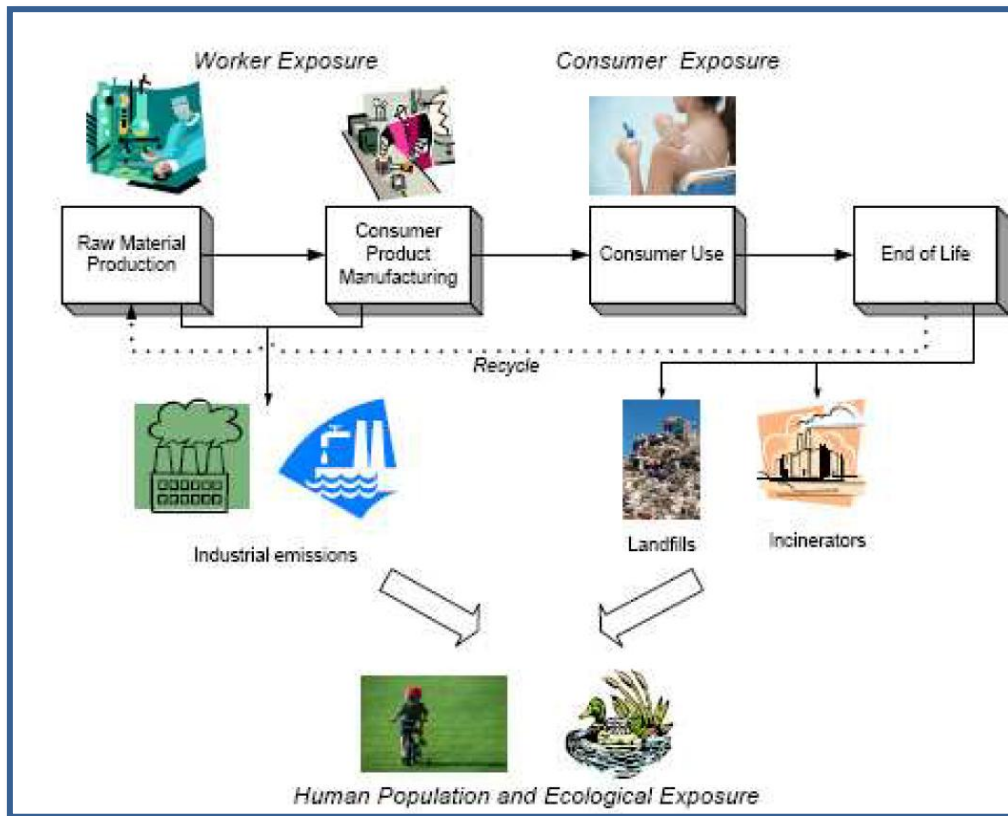


Figure 02 : Illustration du cycle de vie des nanoparticules et des risques engendrés (Ophélie, 2008).

1.5.2. Effets des nanoparticules sur l'Homme :

1.5.2.1. Voies d'entrée dans l'organisme:

L'Homme peut entrer en contact avec les nanoparticules de trois façons : en les touchant (voie cutanée), en les ingérant (voie digestive) ou en les respirant (voie respiratoire).

➤ L'appareil respiratoire:

Le dépôt des nanoparticules dans l'appareil respiratoire se fait essentiellement par diffusion (Witschger and Fabries, 2005). La localisation de ce dépôt dépend de la taille, de la forme et de l'état d'agglomération des particules. Ainsi dans le cas de particules sphériques non agglomérées, l'intensité du dépôt en fonction de leur taille a pu être modélisée dans les

différentes régions du tractus respiratoire : la région extra-thoracique (incluant la bouche, le nez, le larynx et le pharynx), l'arbre trachéo-bronchique (qui s'étend de la trachée aux bronches) et la région alvéolaire (constituée des bronchioles terminales et des alvéoles) (**Buzea et al., 2007; Yang et al., 2008**).

➤ **Le tractus digestif:**

Le tractus digestif constitue une autre voie d'entrée des nanoparticules qui peuvent avoir deux origines : les premières qui peuvent être ingérées directement avec l'eau, les aliments ou les médicaments, et les secondes qui sont éliminées de l'appareil respiratoire par l'escalier mucociliaire. Seulement quelques études ont été menées sur ce sujet et montrent que les nanoparticules sont éliminées rapidement avec peu de passage à travers la barrière intestinale (**Jani et al., 1994; Yamago et al., 1995**). Cependant, comme pour la translocation de la barrière alvéolaire, il existe très certainement des différences suivant la nature et la taille des nanoparticules. En effet il a été montré que l'internalisation des nanoparticules par les cellules intestinales dépend de ces deux paramètres (**Win and Feng, 2005**).

➤ **La voie cutanée:**

Du fait de leur taille réduite, les nanoparticules pourraient avoir plus de facilité à passer la barrière cutanée pour atteindre le derme qui est riche en vaisseaux sanguins et lymphatiques, en nerfs sensitifs et en cellules dendritiques. Cependant la plupart des études ne montrent pas (**Cross et al., 2007; Lademann et al., 1999**) ou ne montrent qu'une faible pénétration de nanoparticules dans l'épiderme mais sans qu'il y ait passage dans le derme lorsque celui-ci est intact (**Alvarez-Román et al., 2004**). Ainsi l'épiderme semble être une barrière efficace pour empêcher la pénétration des nanoparticules mais à condition que celui-ci ne soit pas lésé. En effet quelques études mettent en évidence une pénétration dans le derme : celle-ci serait imputée à des lésions cutanée ou à une ouverture des follicules pileux et non à une diffusion dans l'épiderme (**Mavon et al., 2007; Tinkle et al., 2003**).

Le passage ou non des nanoparticules par la peau n'apparaît donc pas clair et est probablement dépendant de leurs caractéristiques. De plus, il reste aussi à déterminer, en cas de pénétration, si les nanoparticules restent localisées dans le derme ou si ils transloquent par le sang ou encore les nerfs sensitifs (**Angélique, 2008**).

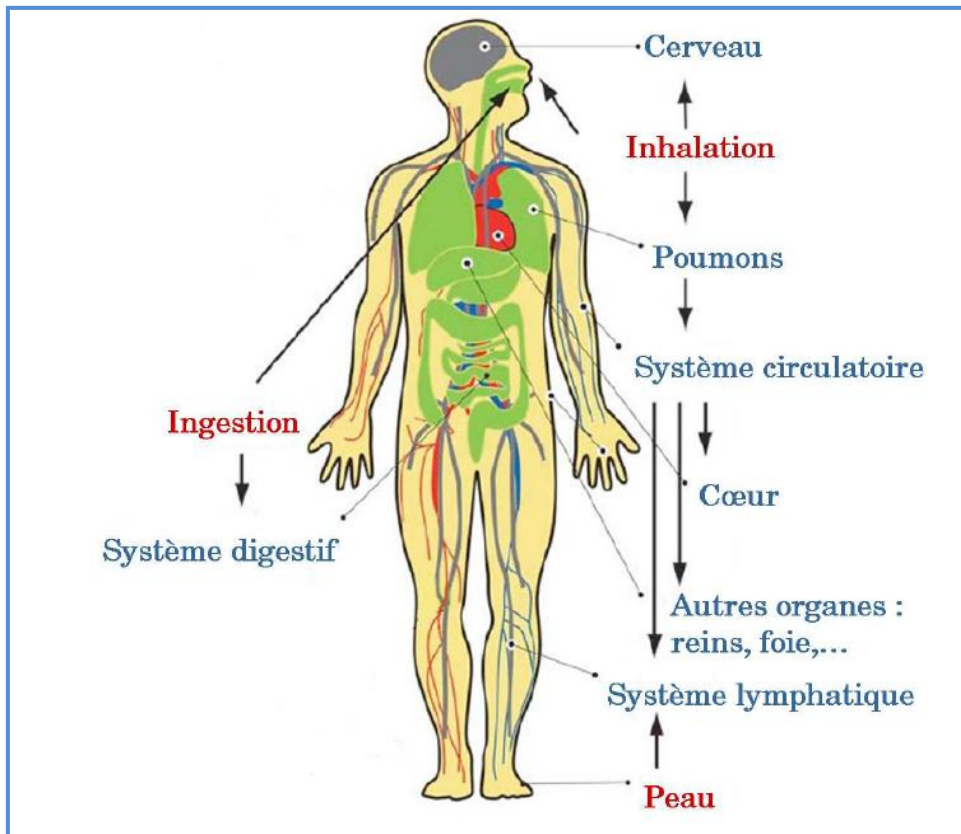


Figure 03 : Voies d'exposition de l'homme aux nanoparticules (en rouge) et devenir dans le corps humain (bleu) (d'après Buzea *et al.*, 2007).

1.5.3. Effets des nanoparticules sur l'environnement:

Actuellement, la recherche est plus focalisée sur les effets des nanoparticules sur la santé humaine que sur les écosystèmes. Pour évaluer leur toxicité sur des organismes vivants, les chercheurs ont mis en contact des poissons, des batraciens et des bactéries avec des nanoparticules. Par exemple, les chercheurs ont observés des effets toxiques sur les microorganismes (bactéries) lorsque les expériences été faites sans milieux nutritifs. Les effets toxiques provoqués par les nanoparticules sont dus à la production d'espèces très oxydantes à base d'oxygène. Cette propriété des nanoparticules est intéressantes pour dépolluer les eaux car les espèces produites oxydent les molécules dangereuses et tuent les virus et les bactéries présents dans l'eau.

Il y a aussi des études en cours sur la capacité des nanoparticules à générer des changements sur l'ADN (génotoxicité) et sur leurs impacts sur la biodiversité au sein des écosystèmes qui à long terme pourront atteindre l'homme via la chaîne trophique.

Dans l'industrie agroalimentaire, beaucoup de nanoparticules sont introduites dans les produits et les emballages. Les dernières recherches ont démontré que cette industrie est une source potentielle de risques pour l'environnement. Les nanoparticules plus utilisées dans les emballages et les produits alimentaires sont l'argent, l'oxyde de zinc, et le dioxyde de titane

lesquelles ont des propriétés antibactériennes. Comme le dioxyde de titane est la nanoparticule la plus utilisée, la majorité des études l'ont utilisée pour réaliser les tests sur la toxicité. Ces études ont prouvé sa toxicité sur certaines espèces comme les truites, puces de l'eau et les algues. Le nano oxyde de zinc est aussi dangereux pour ces espèces qui symbolisent les indicateurs écologiques.

Le risque majeur que peut entraîner une utilisation excessive des nanoparticules antibactériennes est la disparition des espèces qui sont bienfaitantes pour l'environnement, telles que les bactéries qui nitrifient et dénitrifient l'eau et les bactéries qui fixent le nitrogène des plantes. Cela pourrait occasionner une altération de l'écosystème (Joanna *et al.*, 2009).

Les nanoparticules peuvent d'abord relever de la réglementation relative aux agents chimiques : il s'agit de la réglementation sur les substances dites «existantes» et les substances dites «nouvelles», qui sera bientôt remplacée par le projet de règlement «**REACH**» concernant l'Enregistrement, l'Evaluation, l'Autorisation et Restriction des Substances Chimiques.

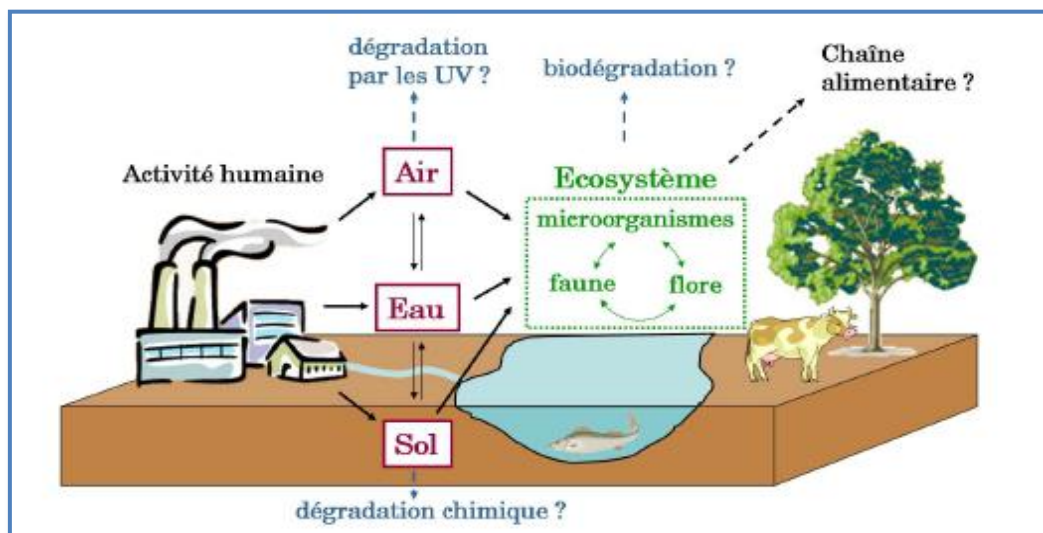


Figure 04 : Contamination et devenir des nanoparticules dans l'environnement. En rouge sont indiquées les voies de contaminations primaires et en bleu les voies de dégradation hypothétiques (Angélique, 2008).

2. Le règlement REACH :

Le Règlement **REACH** est entré en vigueur le 1er juin 2007. **REACH** est l'abréviation de **R**egistration, **E**valuation and **A**utorisation of **C**hemical **S**ubstances (Enregistrement, Evaluation et Autorisation des substances Chimiques) [2].

REACH demande à l'industrie de fournir aux utilisateurs toutes les informations sur les risques que présentent les substances chimiques qu'elle fabrique et distribue, de manière à améliorer les décisions quant à leurs utilisations. Pour les substances mises sur le marché et

représentant au moins une tonne par an, les données se rapportant à la toxicité doivent être enregistrées auprès de l'Agence Européenne des Produits Chimiques (ECHA).

REACH a de ce fait provoqué une demande urgente de tests de toxicité pour un grand nombre de substances chimiques. Environ 100 000 substances chimiques pourraient être enregistrées dans le cadre de **REACH** entre 2010 et 2018, nécessitant des données issues des tests de toxicité [3].

Le règlement **REACH** vise à assurer un niveau élevé de protection de la santé humaine et de l'environnement contre les effets dangereux des produits chimiques. Il incarne l'équilibre, défini dans le cadre du processus législatif, entre la nécessité de générer de nouvelles informations sur les propriétés dangereuses de ces produits au moyen d'essais sur les animaux et la volonté d'éviter de tels essais dès lors qu'ils sont inutiles. Aussi, le règlement stipule-t-il que les essais sur les animaux vertébrés ne doivent être réalisés que s'il n'existe aucune autre solution [4].

Sur la question des nanoparticules, l'Union européenne, dans le prolongement de **REACH**, devrait très prochainement s'engager dans une démarche de réglementation sur les nanomatériaux. Elle envisage déjà pour 2012-2013 une obligation d'étiquetage pour les cosmétiques contenant des nanoparticules (Picot, 2012).

Le principal objectif de nouveau programme est d'assurer un plus haut niveau de protection de la santé humaine et de l'environnement tout en permettant un fonctionnement efficace des marchés internes de l'innovation et de la compétition de l'industrie chimique (Ostiguy, 1980).

Un des objectifs fondamentaux de REACH est de promouvoir des méthodes alternatives pour l'évaluation des risques des substances chimiques et de n'utiliser les tests sur les animaux qu'en dernier recours [3].

2.1. Le principe du règlement REACH :

- ✓ **Enregistrement**, de toutes les substances produites ou importées à plus d'une tonne par an ;
- ✓ **Evaluation**, des propositions d'essais, des dossiers et des substances par les Etats-membres ou l'Agence ;
- ✓ **Autorisation**, pour les substances extrêmement préoccupantes; et restrictions, pour gérer les risques liés à d'autres substances ;
- ✓ **Restriction** d'usages des produits Chimiques (Jérémié, 2010).

2. 2. Les Méthodes alternatives :

Le recours à des méthodes alternatives en expérimentation animale est aujourd'hui une nécessité, eu égard notamment aux exigences du règlement **REACH** qui requiert des résultats rapides et fiables sur les propriétés toxiques et écotoxiques des substances chimiques. De plus, elles sont nécessaires pour répondre aux préoccupations sociétales autour d'une démarche éthique en expérimentation animale. Le règlement **REACH** et la directive sur la protection des animaux utilisés à des fins scientifiques ne visant pas la suppression des essais, les méthodes alternatives doivent permettre de satisfaire un ou plusieurs principes des « **3R** » : **S**ubstitution (**R**emplacer les modèles animaux à chaque fois possible), **R**éduction (réduire le nombre d'animaux en expérimentation), **R**affinement (optimiser la méthodologie appliquée aux animaux).

2.2.1. Les « **3R** » : principes éthiques de l'expérimentation animale

La règle des « **3R** », élaborée en 1959 par Russell et Burch, constitue le fondement de la démarche éthique liée à l'expérimentation animale en Europe et en Amérique du Nord. Les bonnes pratiques en expérimentation animale s'appuie sur :

- **Reduce** : réduire le nombre d'animaux en expérimentation ;
- **Refine**: optimiser la méthodologie appliquée aux animaux, notamment les conditions de transport, élevage, hébergement, utilisation (limiter ou éviter la douleur et la souffrance subie par les animaux, notamment en fixant des points limites – critères d'interruption ou *end points*) ;
- **Replace** : remplacer les modèles animaux à chaque fois que possible par des méthodes *in vitro* (étude sur cellules humaines ou animales) ou *in silico* (modélisation mathématique avec l'aide de l'informatique) (**Aurelie, 2011**).

Les principes éthiques structurés par les « **3R** » servent de base à la Directive 2010/63/UE du 22 septembre 2010 sur la protection des animaux utilisés à des fins scientifiques. Applicable au 1^{er} janvier 2013, elle exige, pour une procédure donnée, que soient choisies en priorité les méthodes alternatives reconnues par l'UE, si elles existent. Le règlement **REACH** affiche la nécessité de « promouvoir le développement de méthodes alternatives » dans la procédure instituant l'**E**nregistrement, l'**E**valuation, l'**A**utorisation et la **R**estriktion des **S**ubstances **C**himiques.

Ce type de méthode, dont le but est de prédire les effets des substances, est un outil précieux pour faire le lien entre les informations collectées *in vitro* ou *in vivo* et le devenir du composé chimique dans l'organisme (**Aurelie, 2011**).

2.3. Qu'appelle-t-on « méthodes alternatives » ?

Les méthodes « alternatives », terminologie inventée en 1978 par le physiologiste David Smyth, regroupent les méthodes permettant de satisfaire un ou plusieurs principes des « 3R ».

2.3.1. Les méthodes de substitution :

Ex vivo (prélèvements de tissus d'animaux vivants) ; *in vitro* (modèles cellulaires) ; *in silico* (modèles biomathématiques utilisant des bases de données issues d'expérimentation *in vivo* ou *in vitro*) ; chimie analytique ; regroupement de substances et méthodes de références croisées (lorsque certaines substances ont des points communs suffisants avec des substances déjà connues) ; cellules souches ; organes bio-artificiels ; cultures organotypiques (modèles construits à partir de fragments de tissus ou d'organes).

2.3.2. Les méthodes de réduction :

Méthodes statistiques (par lesquels on obtient plus d'informations à partir d'un seul protocole) ; utilisation d'espèces pour lesquelles les connaissances scientifiques établissent qu'elles sont moins sensibles à la contrainte que d'autres ; contrôle de la variabilité de la réponse (par les paramètres environnementaux et le statut sanitaire et génétique des animaux).

2.3.3. Les méthodes de raffinement :

Diminution de la douleur (examen clinique) ; imagerie du petit animal *in vivo* (ultrasons, bioluminescence, scintigraphie, tomographie) ; télémétrie (enregistrement de paramètres physiologiques en continu) (Aurelie, 2011).

2.4. Les méthodes *in silico* :

Les méthodes *in silico* désignent les modèles biomathématiques utilisant des bases de données issues des expérimentations *in vitro* et *in vivo*. La bioinformatique permet de disposer de modèles descriptifs du vivant à différentes échelles, de l'organisme entier à la cellule. Pour la toxicité d'une substance chimique, l'approche numérique peut rendre compte des mécanismes biologiques complexes impliqués et des effets (observés dans le cadre d'une relation dose absorbée / réponse de l'organisme). L'efficacité des modèles biomathématiques comme méthodes de substitution repose sur la richesse, la qualité et la pertinence des données sur lesquelles ils se fondent ; mais certaines méthodes couplées (QSAR/PBPK par exemple) pourraient fournir une prédiction de qualité équivalente à l'expérimentation *in vivo* (Aurelie, 2011).

L'Union Européenne finance la recherche pour le développement des méthodes *in silico* parce qu'elles présentent des avantages potentiellement immenses [3].

2.4.1. Les avantages des méthodes *in silico* :

2.4.1.1. Réduire les tests sur les animaux:

Pour tester les substances chimiques, les méthodes *in silico* utilisent les résultats des tests *in vivo* et *in vitro* effectués en laboratoire. Elles permettent donc aux scientifiques de limiter la répétition de tests en laboratoire sur les animaux, en les remplaçant par la modélisation sur ordinateur. Cela diminue la souffrance des animaux ainsi que la quantité de déchets chimiques occasionnés par des tests supplémentaires en laboratoire [3].

2.4.1.2. Réduire les coûts et les délais:

Pour les fabricants industriels, les importateurs et les utilisateurs de substances chimiques, les tests *in silico* permettent d'éviter les coûts et les délais liés aux expérimentations animales.

2.4.1.3. Permettre de tester un grand nombre de substances chimiques:

Pour les régulateurs et les citoyens, les méthodes *in silico* permettent de réduire les coûts et d'accroître la faisabilité des tests portant sur la grande quantité de substances chimiques actuellement utilisées.

Les méthodes *in silico* deviennent de ce fait importantes, et dès maintenant avec **REACH**, lorsqu'il s'agit d'évaluer des inventaires entiers de substances chimiques plutôt que quelques substances prioritaires [3].

2.4.1.4. Augmenter la qualité des informations:

Les modèles par ordinateur ont la capacité d'intégrer simultanément les recherches *in vivo* et *in vitro* et, à partir d'études de laboratoires, de produire une compréhension plus sophistiquée et plus fiable sur la façon dont les substances chimiques pourraient affecter dans le futur les humains et l'environnement. Ceci pourrait améliorer l'intelligence scientifique en matière de planification des substances chimiques, et permettre de réduire le nombre d'effets toxiques non anticipés [3].

Les méthodes *in silico* évaluent la probabilité d'une manière utile pour les régulateurs évaluant le risque et l'incertitude. Les méthodes *in silico* peuvent adresser certains risques ou

effets redoutés (endpoints), en particulier ceux pour lesquels les tests sur les animaux ne sont pas entièrement acceptés.

Les tests *in silico* se basent sur des modèles de calcul pour évaluer la sécurité des nanomatériaux. Ce type de tests permet de rationaliser et de prioriser les tests de toxicité à réaliser, coûteux en temps et financièrement, et d'en réduire le nombre. Sur base d'un modèle **Quantitative Structure Activity Relationship (QSAR)**, ont prédit la génotoxicité de 17 types différents de nanoparticules d'oxydes métalliques pour *Escherichia coli*. Néanmoins, l'utilisation d'une telle méthode *in silico* n'en n'est encore qu'à ses débuts. En outre, les effets *in vivo* (potentiels) des nanoparticules sont trop complexes pour pouvoir être déterminés à l'aide de modèles informatiques, qui dépendent des prévisions basées sur des groupes de substances ayant un mécanisme susceptible d'être similaire (**Puzyn et al., 2011**).

1. Généralité :

Les chercheurs sont désormais contraints de travailler à différents niveaux d'investigation du vivant : les méthodes alternatives *in vitro* font appel aux tests de laboratoire sur des composants d'origine biologique (cellules, protéines...) et les méthodes *in silico* se réfèrent à l'utilisation de modèles mathématiques, réalisés à l'aide d'outils informatiques, pour évaluer l'impact d'une substance sur l'organisme. Ces méthodes doivent servir à recueillir des informations suffisamment pertinentes pour réduire le recours à l'animal. On parle des modèles **QSAR** (**Quantitative Structure-Activity Relationships**) [5].

L'utilisation des modèles **QSAR** est un exemple important de méthodes *in silico*. Les modèles **QSAR** (**R**elation **Q**uantitative **S**tructure-**A**ctivité) font le corollaire entre, d'une part, les propriétés et la structure moléculaire d'une substance chimique et, d'autre part, ses effets biologiques sur la santé humaine et/ou sur les espèces dominantes d'un écosystème. La corrélation peut ensuite servir de prédiction et d'évaluation des effets de nouvelles substances [3].

2. Définition :

Une **R**elation **Q**uantitative **S**tructure à **A**ctivité (en anglais : *Quantitative Structure-Activity Relationship* ou **QSAR**) est le procédé par lequel une structure chimique est corrélée avec un effet bien déterminé comme l'activité biologique ou la réactivité chimique.

Ainsi, l'activité biologique peut être exprimée de manière quantitative, comme pour la concentration de substance nécessaire pour obtenir une certaine réponse biologique. De plus lorsque les propriétés ou structures physicochimiques sont exprimées par des chiffres, on peut proposer une relation mathématique, ou *Relation Quantitative Structure à Activité*, entre les deux. L'expression mathématique obtenue peut alors être utilisée comme moyen prédictif de la réponse biologique pour des structures similaires (**Freyhult, 2003**).

La **QSAR** la plus commune est de la forme : activité = f (propriétés physico-chimiques et/ou structurales) (**phuong, 2007**).

Pour faciliter l'application pratique des approches (**Q**)**SAR** dans des contextes réglementaires par les autorités et l'industrie et pour améliorer leur acceptation réglementaire, le projet (**Q**)**SAR** de l'**OCDE** a développé divers produits tels que les principes pour la validation de modèles (**Q**)**SAR**, des documents d'orientation ainsi que la Boîte à outils **QSAR** [6].

3. QSAR ToolBox :

Logiciel pour le regroupement des produits chimiques dans les catégories et combler les lacunes dans les données (éco) toxicologiques nécessaires pour évaluer les risques des produits chimiques [7].

Cette boîte à outils vise à faciliter la prédiction de la toxicité des molécules. Elle enrichit les méthodes alternatives aux expérimentations animales pour constituer les dossiers d'enregistrement de substances chimiques, dans le cadre de réglementations comme **REACH**.

*« Depuis la première version en 2008, l'ambition de **QSAR Toolbox** est de prédire le mode d'action d'une molécule sur l'organisme avec une base scientifique suffisante. Elle s'appuie à la fois sur des modèles statistiques, qui extrapolent l'effet des molécules d'après leur structure, et sur des données d'essais toxicologiques » [8].*

3.1. L'interface de la boîte à outils (QSAR Toolbox) :

L'interface de la boîte à outils représente les six principaux stades du flux de travail (**Chemical Input, Profiling, Endpoint, Catégorie Definition, Data Gap Filling et Reporting**) sur une barre d'outils (1), qui est situé sur la partie la plus haute de la fenêtre du programme (**figure 5**). En dessous de la barre d'étapes il ya une autre barre d'outils-la barre d'actions (2). Il fournit des mesures les plus importantes, qui sont liées à l'étape actuelle. Sur la partie gauche de la fenêtre principale est le panneau des options de scène(3). Il propose des contenus spécifiques pour la scène et des actions liées à ce contenu actuel. La plus grande partie de la forme principale est occupée par la matrice de données (4). Il est disponible dans toutes les étapes, à l'exception du rapport et montre les données interrogées, à la fois expérimentale et prédit pour les produits chimiques chargés dans le système [9].

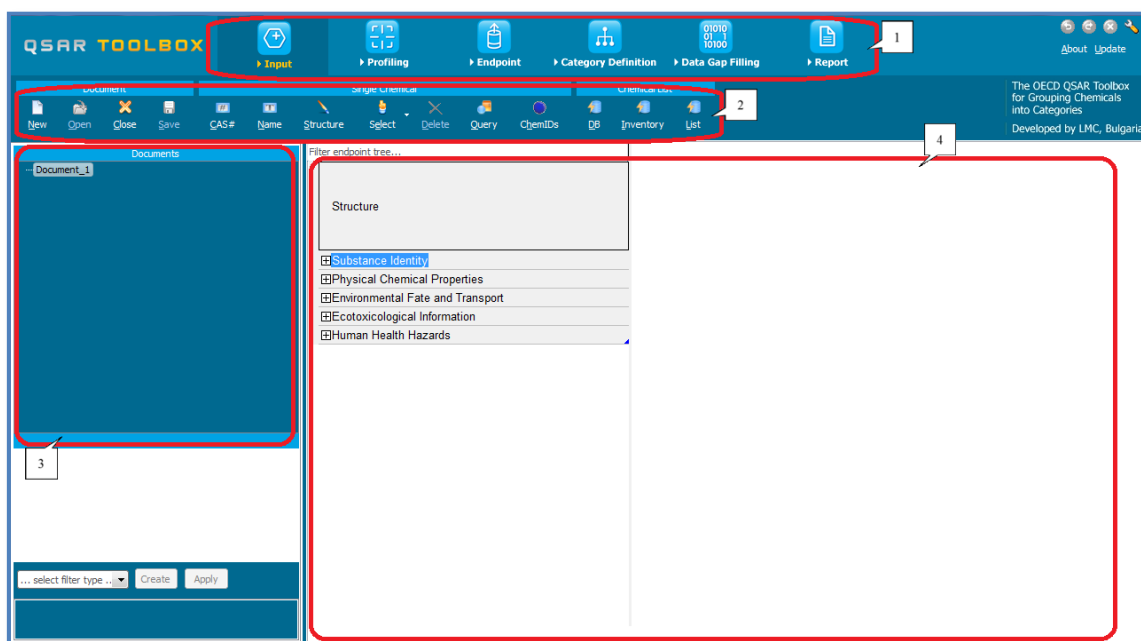


Figure 5: L'interface de QSAR [9].

3.2. Flux de travail:

La boîte à outils fournit un flux de travail (workflow) permettant à l'utilisateur de naviguer à partir de l'entrée des produits chimiques via la collecte des données expérimentales. Il existe six modules (figure 6) de flux de travail (workflow), clairement visibles sur l'interface du programme:[9].

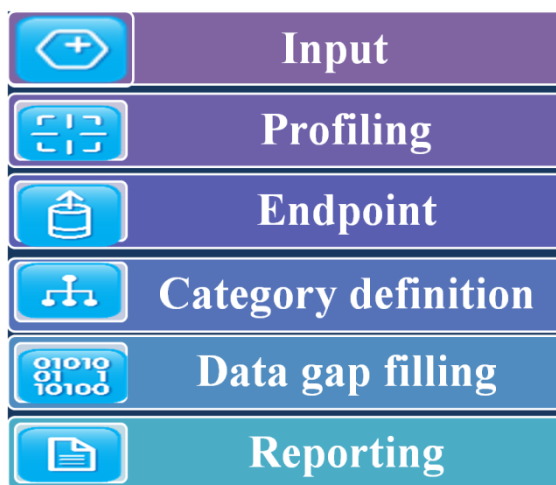


Figure 6: Les six modules de QSAR toolbox [10].

3.2.1. Entrée des produits chimiques cibles (Chemical Input):

Définissez votre produit chimique cible par son nom chimique, numéro de **CAS** (Chemical Abstracts Service) ou **SMILES** (Système Simplifié Moléculaire Entrée de l'Information en Ligne) [11].

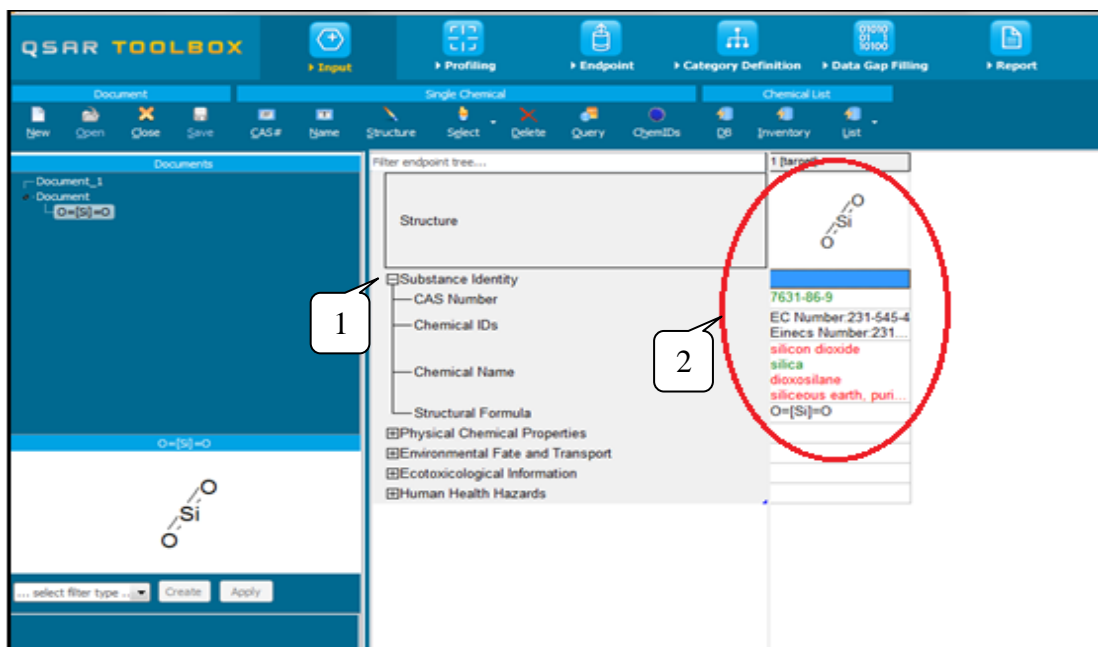


Figure 7: Module Chemical Input avec l'identité de la substance cible [9].

Un code de couleur (2) indique la fiabilité de l'identificateur de produit chimique:

- **Vert** : Il existe une grande fiabilité entre l'identifiant et la structure. Cette couleur est attribuée si l'identifiant est identique dans plusieurs bases de données de qualité assurée.
- **Jaune** : Il ya seulement une fiabilité modérée entre l'identifiant et la structure. La couleur est attribuée si l'identifiant est identique dans plusieurs bases de données pour lequel le contrôle de la qualité n'a pas pu être établi.
- **Rouge** : Il ya un manque de fiabilité entre l'identifiant et la structure. La couleur est attribuée si l'identificateur est alloué à des structures différentes dans différentes bases de données.
- **Bleu** : Il ya un conflit entre les relations [12].

3.2.2. Profilage (Profiling) :

Récupérer des informations sur la base de l'identité de la substance ou de sa structure, sélectionnez profileurs en cochant les cases correspondantes. Le programme établit un «profil» de la substance chimique sur la base de sa structure [11].

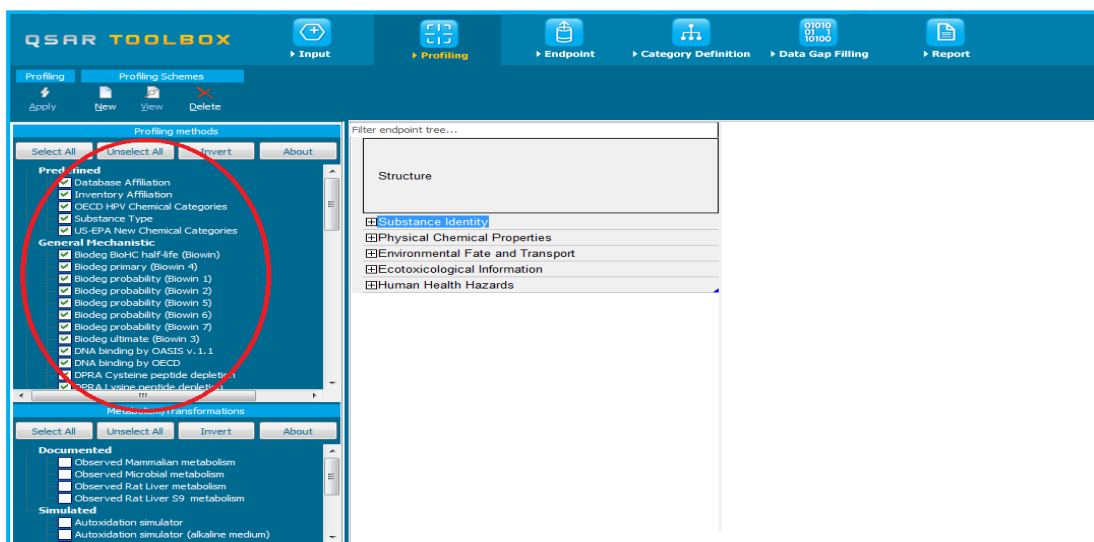


Figure 8: Les différentes méthodes de profilage [9].

3.2.3. Critères d'évaluation (Endpoint) :

Récupérer les résultats expérimentaux des bases de données de résidents
Sélectionnez les bases de données en cochant les bases de données correspondantes [11].

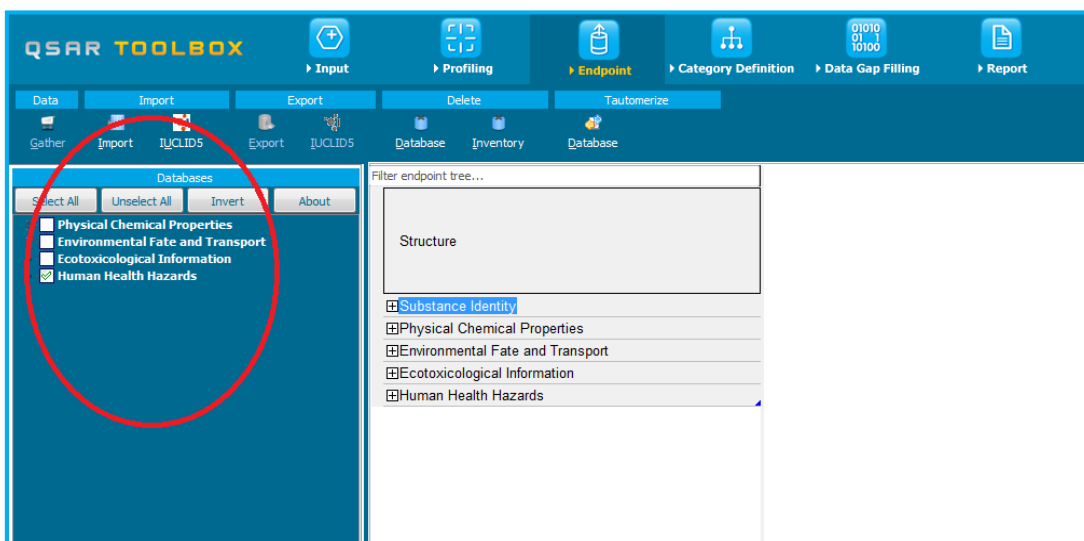


Figure 9: Les données du devenir dans l'environnement, de l'écotoxicité et de la toxicité [9].

3.2.4. Définition de la catégorie (Category definition) :

Identifier les produits chimiques qui pourraient constituer une catégorie avec le produit chimique "cible" selon différentes mesures de la "similarité" [11].

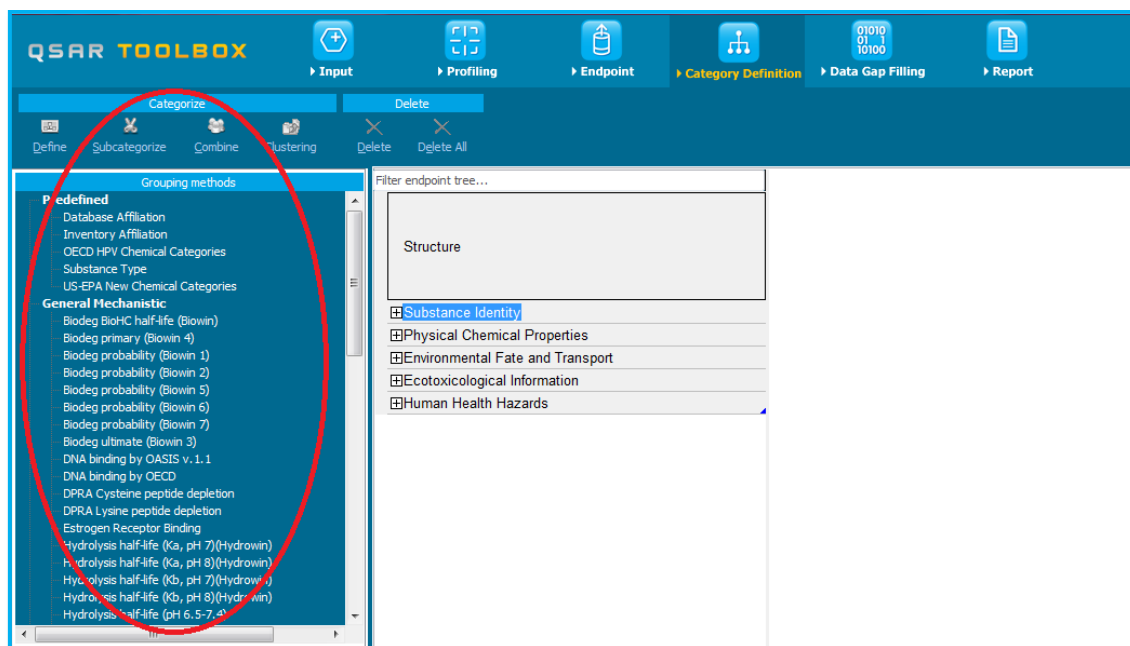


Figure 10: Les méthodes de regroupement des produits chimiques [9].

3.2.5. Comblant les lacunes des données (Data Gaps Filling) :

Le module de remplissage des lacunes des données « **Filling data gaps** » a pour objectif de donner l'accès à trois différents outils des données de remplissage des lacunes (**figure 11**) :

- Read-across ;
- L'analyse des tendances ;
- Modèles **QSAR**.

Les références croisées (**Read-across**) et l'analyse des tendances utilisent les données expérimentales disponibles dans la matrice pour combler une lacune de données. Les modèles (**Q**) **SAR** donne accès à une bibliothèque de modèles externes (**Q**) **SAR** qui ont été intégrés dans la boîte à outils.

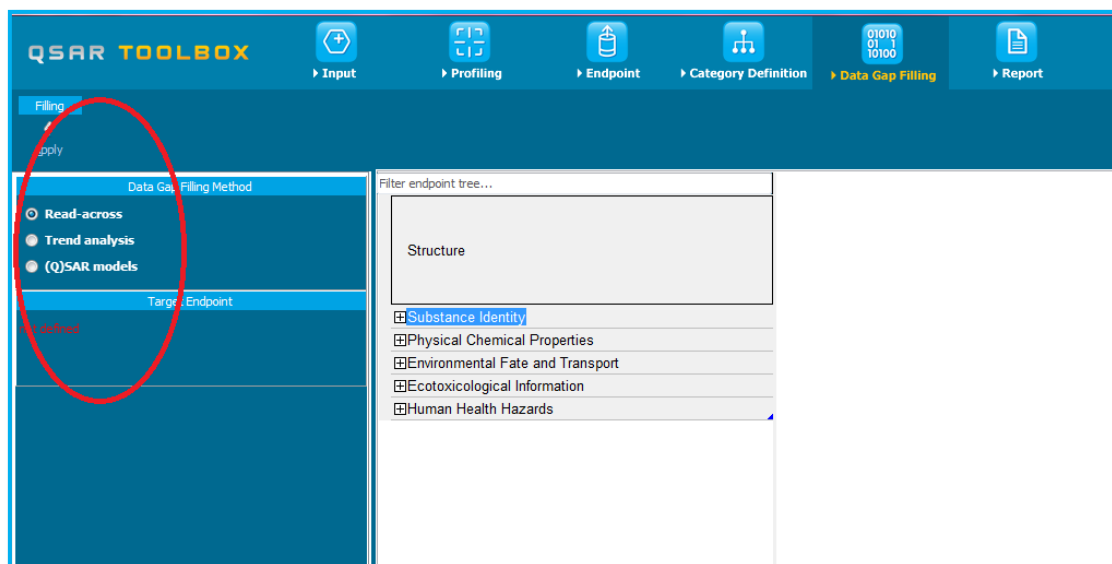


Figure 11: Les trois différents outils des données de remplissage des lacunes [9].

Selon la situation, le mécanisme de l'écart de données la plus pertinente doit être choisie en tenant compte des considérations suivantes:

- Read-across, qui extrapole pour un produit chimique non testé à partir de produits chimiques testés au sein d'une catégorie ;
- Analyse des tendances, estimant un produit chimique non testé à partir d'une "tendance" (augmentation, diminution ou constant) en vigueur au sein d'une catégorie ;
- (Q) SAR modèles permettant d'estimer les valeurs manquantes à partir d'un modèle statistique pour une catégorie [9].

3.2.6. Le rapport (Reporting) :

En utilisant le module « **Rapport** », l'utilisateur peut générer des rapports (**figure 12**) sur l'une des prédictions réalisées avec la boîte à outils. Cette dernière contient des modèles de rapports prédéfinis ainsi qu'un éditeur de modèle avec lequel les utilisateurs peuvent développer et définir leurs propres modèles [9].

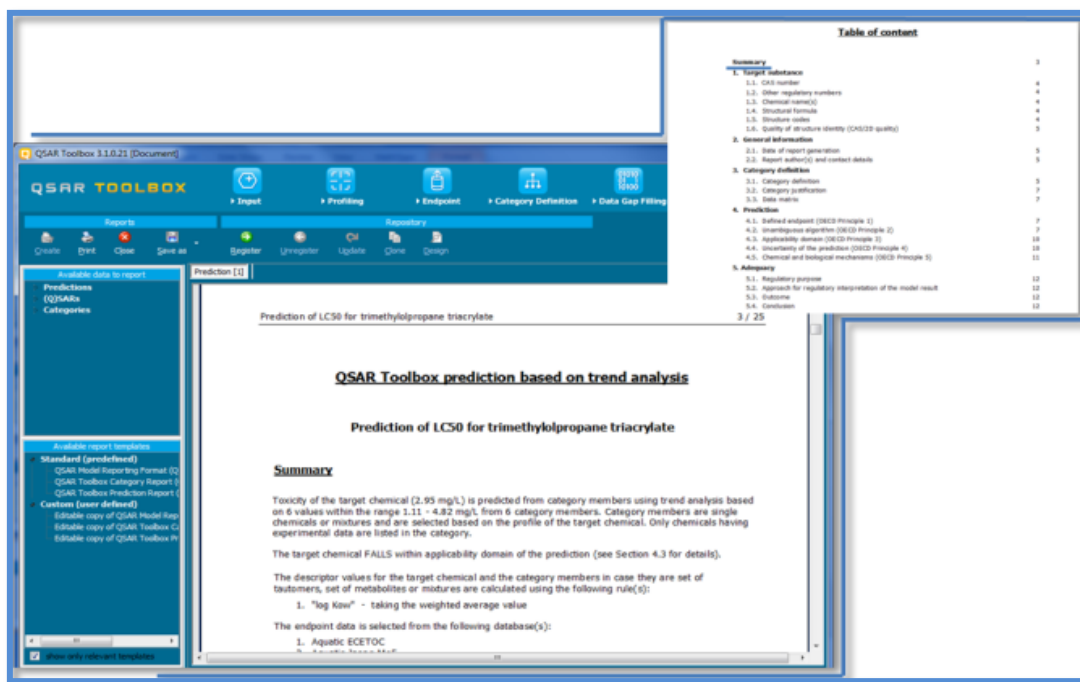


Figure 12: Le rapport [11].

3.3. Les descripteurs moléculaires :

Le principe des méthodes **QSAR** (*Quantitative Structure Activity Relationship*) consiste à mettre en place une relation mathématique à l'aide de méthodes d'analyse de données, reliant des propriétés moléculaires microscopiques appelées descripteurs, à un effet expérimental (activité biologique, toxicité, affinité pour un récepteur), pour une série des composés chimiques similaires. Le point de départ de telles méthodes se construit sur la définition des descripteurs moléculaires empiriques ou théoriques. Ces dernières prennent en compte des informations sur la structure et les caractéristiques physico-chimiques des molécules [13].

Ces descripteurs peuvent être :

3.3.1. Les descripteurs 1D : sont accessibles à partir de la formule brute de la molécule, et décrivent des propriétés globales du composé. Il s'agit par exemple de sa composition, c'est-à-dire les atomes qui le constituent, ou de sa masse molaire. On peut remarquer que ces descripteurs ne permettent pas de distinguer les isomères de constitution.

3.3.2. Les descripteurs 2D : sont calculés à partir de la formule développée de la molécule. Ils peuvent être de plusieurs types :

3.3.2.1. Les indices constitutionnels : caractérisent les différents composants de la molécule.

Il s'agit par exemple du nombre de liaisons simples ou multiples, du nombre de cycles...

3.3.2.2. Les indices topologiques : peuvent être obtenus à partir de la structure 2D de la molécule, et donnent des informations sur sa taille, sa forme globale et ses ramifications.

Ces descripteurs 2D reflètent bien les propriétés physiques dans la plupart des cas, mais sont insuffisants pour expliquer de façon satisfaisante certaines propriétés ou activités, telles que les activités biologiques. Des descripteurs, accessibles à partir de la structure 3D des molécules, ont pu être calculés grâce au développement des techniques instrumentales et de nouvelles méthodes théoriques.

3.3.3. Les descripteurs 3D : d'une molécule sont évalués à partir des positions relatives de ses atomes dans l'espace, et décrivent des caractéristiques plus complexes; leurs calculs nécessitent donc de connaître, le plus souvent par modélisation moléculaire empirique, la géométrie 3D de la molécule. Ces descripteurs s'avèrent donc relativement coûteux en temps de calcul, mais apportent davantage d'informations, et sont nécessaires à la modélisation de propriétés ou d'activités qui dépendent de la structure 3D. On distingue plusieurs familles importantes de descripteurs 3D :

3.3.3.1. Les descripteurs géométriques: les plus importants sont le volume moléculaire, la surface accessible au solvant, le moment principal d'inertie.

3.3.3.2. Les descripteurs électroniques: permettent de quantifier différents types d'interactions inter- et intramoléculaires, de grande influence sur l'activité biologique de molécules. Le calcul de la plupart de ces descripteurs nécessite la recherche de la géométrie pour laquelle l'énergie stérique est minimale, et fait souvent appel à la chimie quantique. Par exemple, les énergies de la plus haute orbitale moléculaire occupée et de la plus basse vacante sont des descripteurs fréquemment sélectionnés. Le moment dipolaire, le potentiel d'ionisation, et différentes énergies relatives à la molécule sont d'autres paramètres importants.

3.3.3.3. Descripteurs spectroscopiques : les molécules peuvent être caractérisées par des mesures spectroscopiques, par exemples par leurs fonctions d'onde vibrationnelles. En effet, les vibrations d'une molécule dépendent de la masse des atomes et des forces d'interaction entre ceux-ci ; ces vibrations fournissent donc des informations sur la structure de la molécule et sur sa conformation. Les spectres infrarouges peuvent être obtenus soit de manière expérimentale, soit par calcul théorique, après recherche de la géométrie optimale de la molécule. Ces spectres sont alors codés en vecteurs de descripteurs de taille fixe (**Goulon, 2008**).

3.3.4. Descripteurs 4D : ils correspondent à la mesure des propriétés 3D (potentiel électrostatique, d'hydrophobicité et de liaison hydrogène) d'une molécule en tout point de l'espace (Muller, 2013).

1. Matériel :

1.1. Choix de substance à tester :

Pour notre étude nous avons choisi un seul ingrédient qui rentre dans les médicaments, des cosmétiques, des additifs alimentaires. La substance été sélectionnée sur deux critères : leur présence persistante dans notre environnement proche (alimentation, cosmétiques...) et les risques mutagènes et/ou cancérigènes soupçonnés, principalement d'après des études réalisées (*in vivo* et/ ou *in vitro*).

Cette application nous permettra de prédire le potentiel de génotoxicité, mutagénicité et cancérogénicité, pour un composé non testé, qui sera la "cible" chimique.

1.2. Définition :

La silice ou dioxyde de silicium est le composé chimique de formule SiO_2 . C'est un minéral très abondant dans l'écorce terrestre (55% en masse). La majorité de la silice naturelle est cristalline. On la trouve sous formes variées comme par exemple le quartz (dans le sable, le grès, le granit, les roches magmatiques...), la trydimite ou la cristobalite, mais elle peut aussi être synthétique. La silice est constituée d'un réseau tridimensionnel d'atomes de silicium dans un environnement tétraédrique liés entre eux par des ponts de type siloxane (Si-O-Si) avec en surface des groupements hydroxyle appelés silanols SiOH. Selon ses méthodes de synthèse, elle peut se présenter sous des formes très variées (comme les fibres, les sols, les gels, les particules) qui permettent l'accès à un grand nombre d'applications. On la retrouve en tant que matériaux de structure pour améliorer les propriétés mécaniques, en tant que support de catalyseurs, comme agent de séparation en chromatographie ou encore comme matériau fonctionnalisé lorsque les silanols de surface réagissent avec une molécule donnée, en particulier pour des applications biologiques (Sandra, 2007).

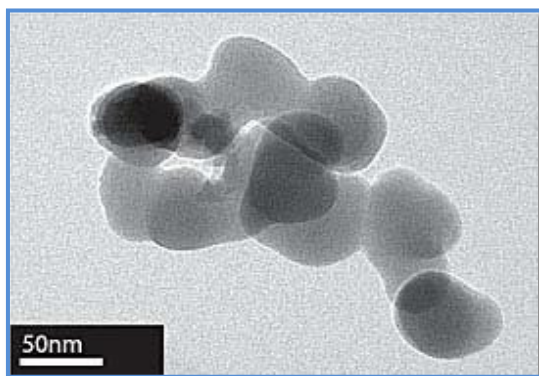


Figure 13 : Agglomérat de nanoparticules de dioxyde de silicium [14].

1.3. Les propriétés de dioxyde de silicium :

1.3.1. Propriétés structurales de dioxyde de silicium :

La silice peut se trouver sous trois formes allotropiques (même composition chimique, mais arrangements atomiques différents) : cristalline (ordre cristallographique à longue distance), vitreuse (ordre à courte distance) et amorphe (absence d'ordre) (Biland, 1986). La structure obtenue par oxydation thermique est la silice vitreuse. Elle est amorphe dans le cas d'un mauvais contrôle de la croissance de l'oxyde. L'unité structurale de base de la silice est un atome de silicium entouré de quatre atomes d'oxygène constituant les sommets d'un tétraèdre (Attallah, 2010).

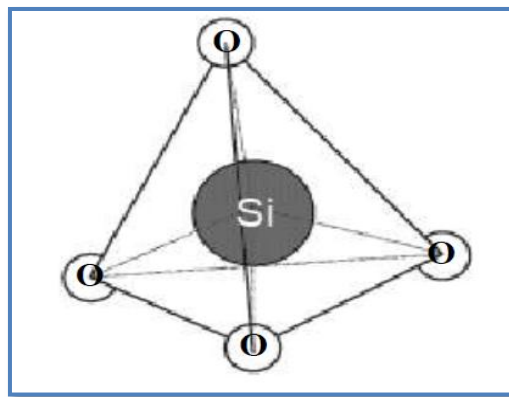


Figure 14 : Structure chimique de silicium (Attallah, 2010).

1.3.2. Propriétés physico-chimiques de dioxyde de silicium:

Tableau 3 : Descriptif de nanoparticule de dioxyde de silicium (Delachat, 2010).

Nom chimique	Dioxyde de silicium
Formule chimique	SiO ₂
N° CAS	[7631-86-9]
Apparence	poudre de couleur blanche
Masse molaire	60,0843 ± 0,0009 g/mol
T° fusion	1 650 °C (±75 °C)
Masse volumique	2,2 solides
Solubilité	0,12 g·l ⁻¹ (eau)
T° ébullition	0,12 g·l ⁻¹ (eau)

1.4. Domaines d'applications :

Le silicium et ses dérivés possèdent des propriétés intéressantes (transparence, solidité, conductivité, piézoélectricité) et ses applications artisanales et industrielles sont nombreuses. Matériaux de construction (à partir du sable), verre (contient plus de 60% de silice), silicone, pneus, semelles, céramiques, étains, abrasifs, composants électroniques (semi-conducteurs), cellules photovoltaïques, la silice amorphe (E551) et divers silicates (E552 à E559) sont des additifs alimentaires anti-agglomérants qui facilitent l'écoulement des matières pulvérulentes [15].



Figure 15 : Les différents produits de consommation (Camille, 2011).

2. Méthodes:

2.1. Test de Cramer (Arbre de décision) :

La notion d'arbre de décision recouvre en fait une démarche proposée initialement par Oser et Hall puis complétée par Cramer, Elle consiste à classer un composé de toxicité non connue en répondant à une série de questions, 33 au total, qui portent sur sa structure chimique. La progression au sein de cet arbre de décision se faisant en fonction de la nature de la réponse (oui ou non) jusqu'à un niveau (une branche) qui permet, sous l'hypothèse d'une relation entre la structure et la toxicité orale, de classer les composés en trois classes (Oser B *et al.*, 1977).

- **La classe I :**

Regroupe les substances dont la structure suggère un faible niveau de toxicité orale. Si de plus l'exposition est faible, le niveau de priorité pour des investigations toxicologiques est faible. Si l'exposition est forte le niveau de priorité sera proportionnel à celle-ci.

- **La classe II :**

Est une classe intermédiaire.

- **La classe III :**

Regroupe les substances pour lesquelles la structure suggère une faible présomption de non-toxicité voire une toxicité possible. Le niveau de priorité pour des investigations toxicologiques est donc fort, d'autant plus que l'exposition est préjugée importante (Oser B *et al.*, 1977).

The screenshot shows the ToxTree software interface. The title bar reads "ToxTree (Estimation of Toxic Hazard - A Decision Tree Approach) v2.6.0". The main window is divided into several sections:

- Available structure attributes:** A table listing attributes for the chemical structure.

Cramer rules	High (Class III)
SMILES	O=[Si]=O
cdk:Comment	Created from SMILES
toxTree.tree.cramer.Cram...	1N,2N,3Y,4H
- Structure diagram:** A chemical structure diagram showing a central Silicon (Si) atom bonded to two Oxygen (O) atoms, representing the chemical structure O=[Si]=O.
- Toxic Hazard:** A section titled "by Cramer rules" with an "Estimate" button. It displays three horizontal bars representing toxicity classes:
 - Low (Class I)
 - Intermediate (Class II)
 - High (Class III) - This bar is highlighted in red.
- Cramer rules:** A section with a "Verbose explanation" checkbox checked. It lists four rules:
 - Q1. Normal constituent of the body: No O=[Si]=O
 - Q2. Contains functional groups associated with enhanced toxicity: No O=[Si]=O
 - Q3. Contains elements other than C,H,O,N,divalent S: Yes O=[Si]=O
 - Q4. Elements not listed in Q3 occurs only as a Na,K,Ca,Mg,N salt, sulphamate, sulphate, hydrochloride ...: No Class High (Class III) O=[Si]=O

Figure 16 : Évaluation de la toxicité de la cible chimique par la méthode de Cramer.

2.2. Les tests de Génotoxicité :

La génotoxicité c'est une altération du patrimoine génétique cellulaire non transmissible à la descendance et qui se traduit par un dysfonctionnement cellulaire pouvant conduire à des

cancers des organes touchés. L'action des toxiques s'exerce sur les chromosomes et sur le patrimoine génétique (ADN).

Les tests de génotoxicité sont utilisés comme défrichage prédictif pour détecter un éventuel potentiel cancérigène (notion de tests de cancérigènes à court terme).

La plupart des cancérigènes identifiés chez l'homme ont des propriétés mutagènes sur un ou plusieurs tests expérimentaux. On ne considère que la sensibilité de prédiction des cancérigènes est de 45 % pour le test d'Ames, de 55 % pour les aberrations chromosomiques et de 70 % pour les mutations géniques sur des cellules de mammifères (Alain, 2009).

2.2.1. Test d'Ames :

Le test d'Ames est un test de mutation génique. Il consiste à examiner si une substance chimique est capable d'induire des mutations chez une bactérie: *Salmonella typhimurium* 'His⁻' (Maron et Ames, 1983). Les souches de *S. typhimurium*, utilisées sont porteuses d'une mutation sur l'un des gènes gouvernant pour la synthèse de l'acide aminé histidine. Cette mutation 'His⁻' rend les souches incapables de se développer sur milieu de culture dépourvu d'histidine. Avec une fréquence propre à chaque souche, ces mutations 'His⁻' peuvent réverter spontanément vers 'His⁺'. Les bactéries porteuses de cette mutation réverse, peuvent alors pousser sur milieu dépourvu de cet acide aminé. La fréquence de ces mutations réverses peut être considérablement augmentée en exposant les bactéries à un agent mutagène. Le test d'Ames permet de quantifier l'induction de ces mutations réverses 'His⁺' (Fabrice, 1993).

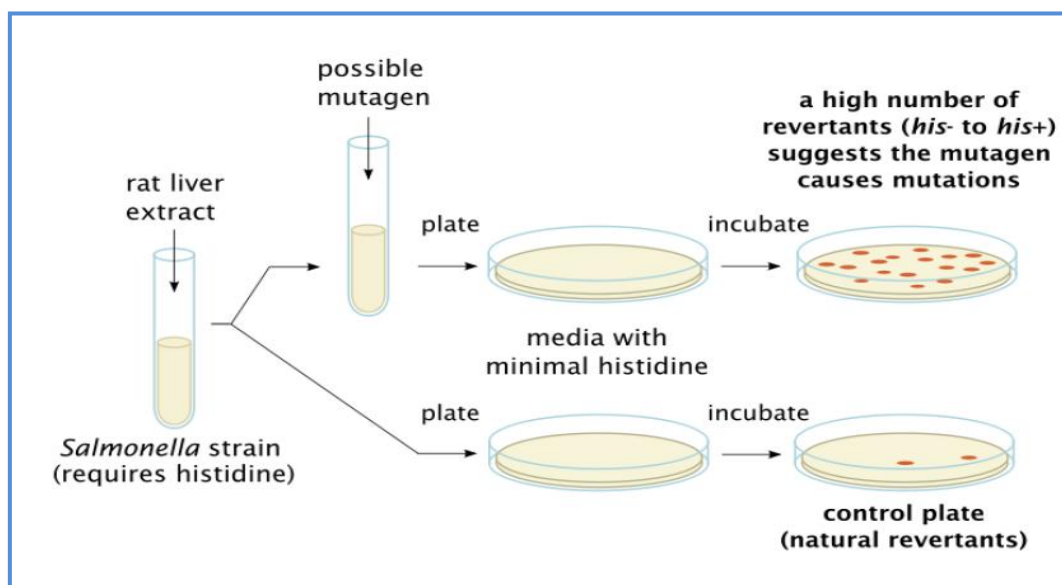


Figure 17 : Test d'Ames (Océane, 2012).

2.2.2. Test des micronoyaux :

Les micronoyaux sont des entités visibles dans le cytoplasme, distinctes du noyau des cellules et formées à partir de fragments chromosomiques ou de chromosomes entiers suite à l'action d'agents mutagènes. Cette technique repose sur l'utilisation de cytochalasine B, un inhibiteur de la polymérisation des filaments d'actine nécessaire à la formation de l'anneau de microfilaments qui permet la cytodierèse. La cellule se retrouve ainsi dans un état binucléé. Les chromosomes lésés par le stress sont incapables de migrer vers les pôles durant la mitose. En télophase, une membrane nucléaire se forme autour prenant l'aspect d'un petit noyau, c'est ce qu'on appelle un micronoyau. Il s'agit alors de comptabiliser le nombre de micronoyaux par cellules binucléées sur un total de 1000 cellules. Ce test présente l'avantage de mettre en évidence à la fois les lésions aneugènes (anomalies du nombre des chromosomes) et les lésions clastogènes et constitue un biomarqueur d'effet précoce qui semble aussi prédictif du risque de cancer (Adeline, 2009).

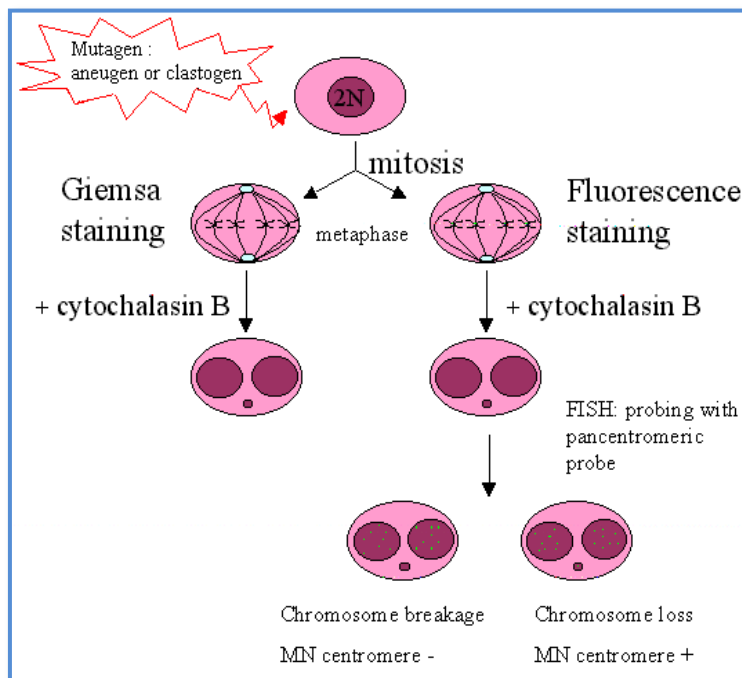


Figure 18 : Formation de micronoyaux (Vincent, 1993).

2.2.3. Test des aberrations chromosomiques :

Le test des aberrations chromosomiques consiste à examiner au microscope optique et déceler des anomalies telles que des cassures de chromosomes avec ou sans délétion, des modifications de structures et d'appariements, des erreurs survenues en cours de mitose

(échanges entre chromatides sœurs...). Cet examen se fait au cours de la métaphase de la mitose. La fréquence des aberrations est évaluée sur 200 mitoses par lames de microscope. L'augmentation de la fréquence des aberrations chromosomiques est prédictive de la survenue de cancers (**Bonassi, 1995 ; Hagmar, 1998**).

2.3. La mutagénicité et cancérogénicité :

La mutagenèse, mutations héréditaires sur les cellules germinales (reproductives) théoriquement transmissibles à la descendance.

Il existe des preuves très importantes d'une corrélation positive entre la mutagénicité des substances *in vivo* et leur caractère cancérogène dans les études à long terme chez l'animal. Le but des tests de mutagénicité est d'estimer le potentiel des substances à induire des effets pouvant provoquer des dommages héréditaires chez l'homme ou conduire au cancer (**Alain, 2009**).

1. Résultats :

Dans ce travail, l'ensemble des résultats obtenus à l'issue des différents tests menés est exposé. Les résultats basés sur l'utilisation de modèle **QSAR** comme méthode alternative à l'expérimentation animale afin de prédire l'effet toxique des NPs, cas de **SiO₂**.

L'objectif fixé pour ce chapitre étant de présenter l'ensemble des résultats obtenus, il semble capital pour le lecteur de disposer de l'ensemble des informations nécessaires à une compréhension rapide et claire. Pour cela, la présentation des résultats est réalisée au travers de différents documents.

‘ Nous verrons ensuite que les modèles **QSAR** sont un outil de prédiction de la génotoxicité des substances chimiques, elles sont capables d'estimer les risques liés à certains composés (formation des micronoyaux, aberration chromosomique).

Les résultats de notre étude sont exprimés par **le coefficient de partage octanol/eau**, noté **logP (log Kow)**, qui mesure la solubilité différentielle d'un soluté dans ces deux solvants non miscibles :

$$\log P = \log [C_{\text{octanol}} / C_{\text{H}_2\text{O}}]$$

C_{octanol} et $C_{\text{H}_2\text{O}}$ sont les concentrations du soluté dans l'octanol et l'eau. Il est déterminé pour évaluer les effets imputables à la lipophilie.

Le caractère lipophile d'une molécule traduit souvent des propriétés biologiques comme le métabolisme, la distribution dans les tissus, la liaison avec le site récepteur... . Une variation de la lipophilie entraîne ainsi une modification de la concentration de la molécule sur le site récepteur. La lipophilie est par conséquent une variable importante dans les équations de corrélations utilisées pour prédire l'activité biologique (**QSAR**) [16]. Le **log Kow** est ainsi utilisé dans de nombreux modèles en tant que descripteur, pour la prédiction d'effets toxiques ou biologiques ou d'interactions ligand-récepteur. Cette propriété physico-chimique peut être mesurée, mais ces mesures sont généralement longues et coûteuses.

Si le **Log Kow** est positif et très élevé, cela exprime le fait que la molécule considérée est bien plus soluble dans l'octanol que dans l'eau, ce qui reflète son caractère lipophile, qui entraîne le risque de bioaccumulation (**Goulon, 2008**).

Dans un premier temps, nous avons exposé comment la technique de classification peut être appliquée pour classer des molécules toxiques suivant leur structure chimique. Nous avons

par ailleurs montré que le *test de classification des dangers toxiques par Cramer* était capable de distinguer les molécules de haute toxicité (classe III), des molécules de faible toxicité (classe I).

Selon la Figure 19, les NPs de SiO_2 ont un niveau élevé de toxicité (**classe III**).

Ce résultat met en évidence la capacité de ce test à classer la toxicité des molécules en trois classes, indiquant le degré de danger de chaque classe.

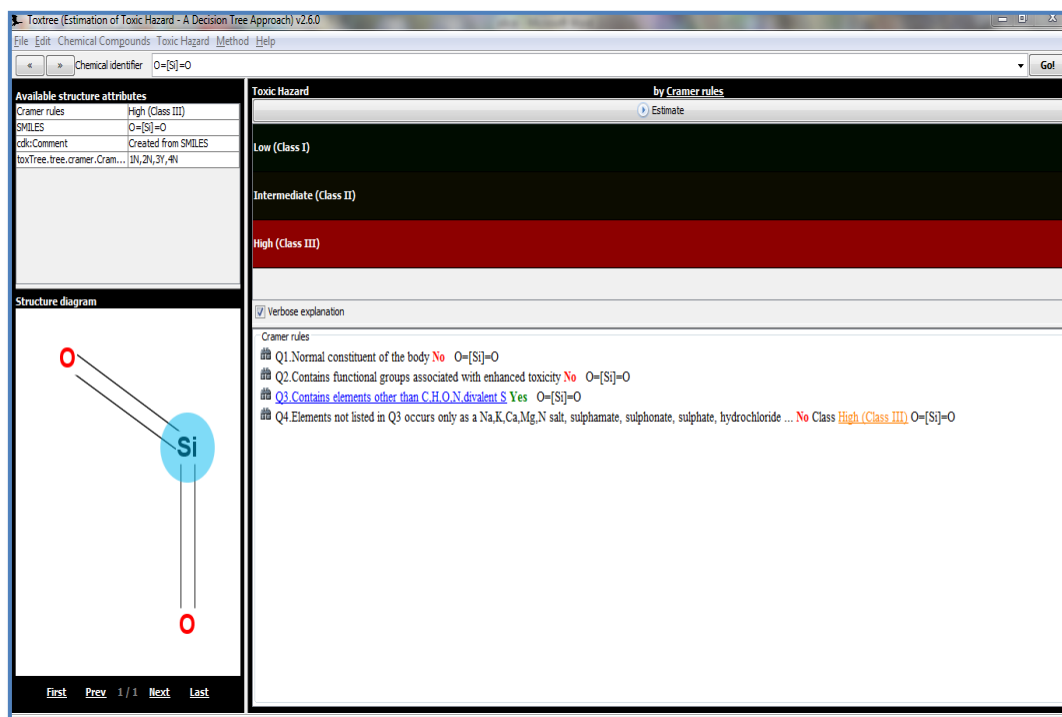


Figure 19 : Classification de la toxicité de SiO_2 par la méthode de Cramer.

Nous avons ensuite appliqué les tests de génotoxicité sur notre modèle chimique.

La figure 20 illustre la réponse positive concernant les tests de micronoyau et d'aberration chromosomique.

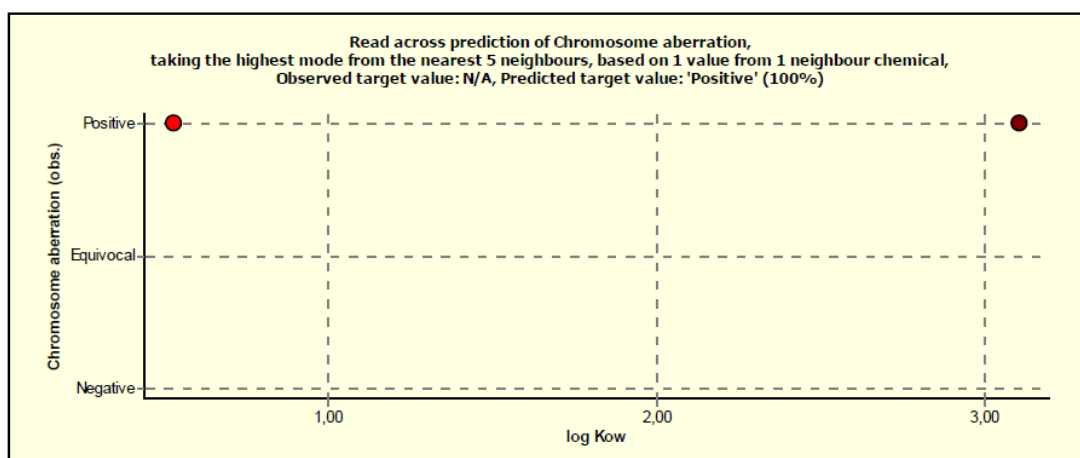


Figure 20 : Descripteur (log P) de prédiction sur la base de test

(Aberration chromosomique).

- Le **rouge** représente la prédiction de produit chimique cible ;
- Le **marron** représente le résultat expérimentale pour l’analogue qu’est utilisé dans les références croisées ;
- Le **bleu** représente le résultat expérimental pour l’analogue qui n’est pas utilisé dans les références croisées.

La toxicité de ce produit chimique cible est prédite à partir de membres de la catégorie en utilisant la base d’une seule valeur (1 positif) à partir d’un seul voisin le plus proche par rapport aux descripteurs de prédiction des références croisées.

La figure 21, montre la réponse négative au niveau de l’application du test d’Ames

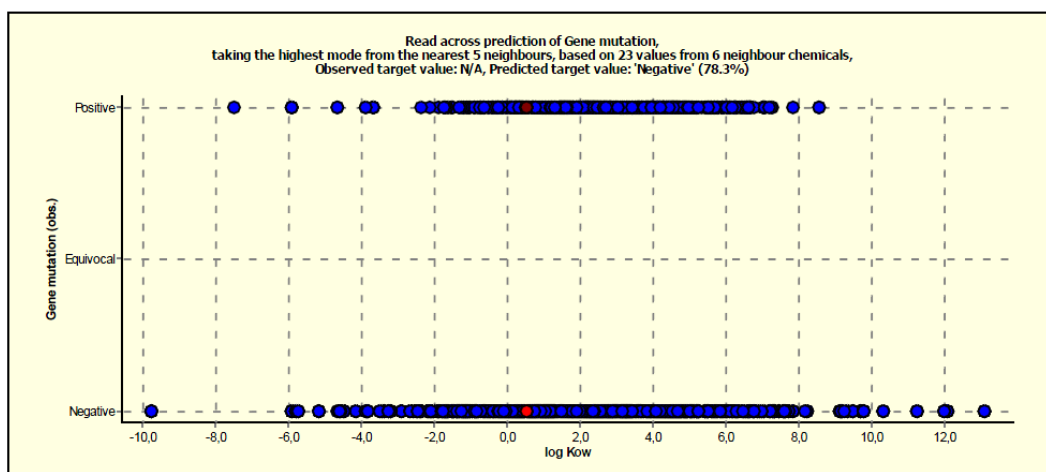


Figure 21 : Descripteur (log P) de prédiction sur la base de test (mutation génique).

La toxicité de ce produit chimique cible est prédite à partir de membres de la catégorie en utilisant la base de 23 valeurs (dont 5 positives et 18 négatives) à partir de 6 analogues les plus proches par rapport aux descripteurs de prédiction des références croisées.

2. Discussion :

Dans cette partie, nous discuterons les résultats obtenus lors de notre étude *in silico* avec d’autres travaux (*in vivo* et /ou *in vitro*).

D'après la revue d'Oesch *et al.*, 2012, après le test des aberrations chromosomiques, le test des micronoyaux est le deuxième test le plus utilisé pour étudier la génotoxicité des nanomatériaux ; et pour l'ASN [17], le test *in vitro* des micronoyaux apparaît bien adapté aux NM pour mettre en évidence les mutations chromosomiques.

Il permet à la fois de détecter les anomalies de nombre (effets aneugènes) et de structure (effets clastogènes) (Oesch, *et al.*, 2012). L'ASNM propose en outre de privilégier pour ce test l'utilisation de cellules humaines en culture primaire comme par exemple les lymphocytes humains.

Oesch *et al.*, 2012, ont ainsi obtenues des résultats positifs avec le test des micronoyaux *in vitro* pour le **SiO₂**.

In vivo, aucun des différents types de NM testés (silice, **TiO₂**, **NTC**) n'entraîne de formation des micronoyaux dans la moelle osseuse après instillation intratrachéale et gavage alors que des nanosilices de 18 nm ont induit la formation de micronoyaux dans les cellules intestinales, mais uniquement pour la faible dose testée (5 mg/kg) [18].

Selon Oesch *et al.*, 2012, trois études présentaient des résultats négatifs concernant les tests d'aberration chromosomique et portaient sur des NPs de **SiO₂**, et de **TiO₂** (Oesch, *et al.*, 2012). Des études plus récentes, *in vivo* (Gad, *et al.*, 2012) et *in vitro* (Nymark, *et al.*, 2013), rapportent également des résultats négatifs.

Alors que pour le test d'Ames, on observe une différence dans nos résultats négatifs avec les études de Wang JJ *et al.*, 2007, qui obtient des résultats positifs sur cellules de mammifères concernant le **SiO₂** (Wang, *et al.*, 2007a).

Wang *et al.*, 2007b, quant à eux, rapportent des résultats de génotoxicité différents pour des nanoparticules de **SiO₂** : résultats positifs pour le test des micronoyaux et le test de mutation sur cellules de mammifère, mais négatifs pour les autres tests génotoxiques.

Selon Brondeau *et al.*, 1997, Les tests conventionnels *in vitro* sont négatifs ; toutefois, à forte dose, sur le même type de cellules, ils observent la formation des micronoyaux mais pas d'aberrations chromosomiques. Tandis que *in vivo*, où l'action génotoxique de la silice cristalline n'a que peu été explorée ; aucun effet n'a été observé dans un test des micronoyaux.

D'après Driscoll, 1995, les fortes doses de quartz (30 mg/ml) incubées avec de l'ADN isolé induisent des cassures de brins. Des cellules inflammatoires (cellules du liquide de lavage bronchoalvéolaire ou monocytes), provenant de rats traités par de l' α -quartz, peuvent, *in vitro*, se révéler mutagènes ou induire des échanges entre chromatides soeurs; ces effets pourraient être attribués à la formation de radicaux oxygénés réactifs, soit directement au niveau des particules, soit par les monocytes activés. Le quartz induit une augmentation de la fréquence des micronoyaux dans les cellules d'embryon de hamster syrien (Driscoll, 1995).

Les études *in vitro* ont mis en évidence le lien entre la cytotoxicité du quartz et sa capacité d'endommager les membranes ; la liaison se ferait entre des groupements hydrogènes membranaires et des groupements silanols ionisés présents à la surface de la silice. Ces

groupements silanols seraient également à l'origine de la formation de radicaux libres oxygénés à la surface des particules et dans les cellules (MAO *et al.*, 1995).

Selon Thierry, 2007, les études réalisées *in vitro* relative à la cyto- et génotoxicité des NPs d'oxyde métallique sont le plus souvent partiels et parfois contradictoires.

En comparant les résultats obtenus par la prédiction du potentiel de génotoxicité des NPs en utilisant le modèle **QSAR** avec d'autres travaux, on remarque que les méthodes *in silico* sont conformes avec les études réalisées *in vivo* et /ou *in vitro*, elles sont donc fidèles à l'évaluation de la toxicité des produits chimiques.

Ces résultats permettent donc uniquement de mettre en garde sur un effet néfaste de ces nanoparticules pour la santé humaine, qui doit être confirmé par des études *in vitro* et *in vivo*.

La méthodologie développée (modélisation par ordinateur) a permis de détecter des effets génotoxiques *in silico* pour la plupart des nanomatériaux, avec cependant une variabilité importante des résultats (test d'Ames, des micronoyaux et des aberrations chromosomiques) pour notre cible (**SiO₂**).

A ce stade des connaissances actuelles, il n'est pas possible de conclure de manière générale sur le potentiel génotoxique des NPs utilisées dans les produits de consommation (médicaments, cosmétiques, etc...) et il convient de disposer d'études appropriées au cas par cas en fonction des caractéristiques physico-chimiques spécifiques de chaque NP.

Selon les conclusions du projet Nanogenotox et des recommandations de l'Organisation de Coopération et de Développement Economiques (**OCDE**), les méthodes existantes peuvent être utilisées mais doivent être adaptées pour tenir compte des spécificités liées aux NM. Il sera également nécessaire de disposer de données relatives à des expositions au long terme à des doses « réalistes », notamment *in vivo* mais également *in vitro*.

Dans ce PFE, nous avons présenté les opportunités offertes par l'intégration d'informations obtenues *in vitro* dans un modèle **QSAR** afin de prédire la toxicocinétique *in silico* des nanoparticules. L'espoir pour ces méthodes est d'obtenir des niveaux de prédiction des dangers identiques à ceux des tests *in vivo* sur animaux, voire d'obtenir des niveaux de prédiction meilleurs en utilisant des tests ou modèles développés spécifiquement pour l'homme et ainsi éviter les extrapolations interespèces.

L'avantage d'une telle méthodologie serait de réduire les expérimentations animales et les coûts financiers liés à de telles études tout en gardant un même niveau de confiance dans les évaluations de danger ou de risque.

Cependant, il reste à évaluer la méthode sur un large panel de molécules, notamment pour les substances émergentes (nanoparticules) ou pour celles pour lesquelles peu d'informations sont disponibles.

Quant à la modélisation **QSAR**, celle-ci souffre généralement du manque de données disponibles. Il est donc nécessaire de créer des bases de données conséquentes intégrant de nombreuses familles chimiques afin de permettre le développement de modèles **QSAR** ayant des domaines de validité élargis.

L'approche intégrative «Le modèle structure de la molécule et activité biologique (**QSAR**) » est extrêmement prometteuse pour répondre aux exigences de la directive **REACH**. Cette approche devrait aussi devenir un outil privilégié en évaluation du risque des nanoparticules, pour lesquels l'industrie ne peut désormais plus fonder ses évaluations sur des tests sur les animaux. Les modèles **QSAR** sont particulièrement adaptés à ces domaines, où il s'agit d'extrapoler à long terme les effets de doses répétées à partir d'informations obtenues sur des temps courts.

- Adeline T., (2009).** «*Modulation de la génotoxicité des hydrocarbures aromatiques polycycliques (hap) en mélanges*».Thèse de doctorat, Ecole doctorale Ingénierie pour la Santé, la Cognition et l'Environnement (ED-ISCE), 168P.
- Alain L., (2009).** «*Toxicologie industrielle*». Éditions Techniques de l'Ingénieur, Paris France, 23P.
- Alvarez R., Naika A., Kalia Y., Guy R., Fessia H., (2004).** «*Skin penetration and distribution of polymeric nanoparticles*».Journal of Controlled Release, 99:53–62.
- Angélique S.D., (2008).** «*Effets biologiques de nanoparticules manufacturées : influence de leurs caractéristiques*».Thèse de doctorat, L'Institut des Sciences et Industries du Vivant et de l'Environnement (Agro Paris Tech), 194P.
- Attallah M., (2010).** «*Elaboration et caractérisation des couches minces d'oxyde de silicium, obtenues par voie sol-gel*». Mémoire, Université mentouri-constantine, 82P.
- Aurelie P., (2011).** «*Méthodes alternatives en expérimentation animale: Cas concrets d'outils d'évaluation in vitro / in vivo et de méthodes de prédiction in silico*». 19P.
- Blland B., Barbottin A.Vapaille A., (1986).** Defects in silica films, their nature.their properties tire d'instabilités in silicon devices, vol, p.104-149, Elsevier editions. *In: Attallah M., (2010).* «*Elaboration et caractérisation des couches minces d'oxyde de silicium, obtenues par voie sol-gel*». Mémoire, Université mentouri-constantine, 82P.
- Bonassi S., Abbondandolo A., Camurri L., Dal Pra L., De Ferrari M., Degrassi F., et al., (1995).** «*Are chromosome aberrations in circulating lymphocytes predictive of future cancer onset in humans? Preliminary results of an Italian cohort study*». 79(2):133-5.
- Brondeau M.T., Clavel T., Falcy M., Hesbert A., Jargot D., Reynier M., Schneider O., (1997).** «*Silice cristalline*». Note établie par les services techniques et médicaux de l'INR (INSTITUT NATIONAL DE RECHERCHE ET DE SÉCURITÉ), paris ,6P.
- Buzea C., Pacheco I. I., Robbie K., (2007).** «*Nanomaterials and nanoparticles: sources and toxicity*».Biointerphases, 2(4):MR17–MR71
- Camille L., (2011).** «*Impact de nanoparticules de tio2 et de nanotubes de carbone sur les végétaux*».Thèse de doctorat, Ecole Doctorale ABIÉS, 296P.

- Commissariat à l'Energie Atomique, (2005).** Clefs du ce a n°52 : Le nanomonde, de la science aux applications. In : **Angélique S.D., (2008).** «*Effets biologiques de nanoparticules manufacturées : influence de leurs caractéristiques*».Thèse de doctorat, Ecole Doctorale ABIES, 225P.
- Cross S.E., Innes B., Roberts M. S., Tsuzuki T., Robertson T.A., McCormick P., (2007).** «*Human skin penetration of sunscreen nanoparticles: In-vitro assessment of a novel micronized zinc oxide formulation*». 148–154.
- Delachat F., (2010).** «*Elaboration et caractérisation de nanoparticules de silicium dans du nitrure de silicium en vue d'applications photovoltaïques*».Thèse de doctorat, École Doctorale Mathématiques, Sciences de l'Information et de l'Ingénieur.192P
- Driscoll K.E., (1995).** «*The toxicology of cristalline silica studied in vitro. Applied Occupational and Environmental Hygiene*».10, 12,1118-1125.
- Elliott D.W., Zhang W.X., (2001).** «*Environnemental Science & Technology*». 35(24):4922–4926.
- Fabrice G., (1993).** «*Performancedese s testsd 'ames et micronoyaux triton, appliques a l'etude de la genotoxicited 'effluents complexese t des interactions entre poltuant*». Thèse de doctorat, Université de Metz, 49.
- Freyhult E. K., Andersson K., Gustafsson M. G., (2003).** «*Structural modeling extends QSAR analysis of antibody-lysozyme interactions to 3D-QSAR, J. Biophys*».84P.
- Gad S.C., Sharp K.L., Montgomery C., Payne J.D., Goodrich G.P., (2012).** «*Evaluation of the toxicity of intravenous delivery of auroshell particles (gold-silica nanoshells). Int J Toxicol*».31: 584-94.
- Goulon A., (2008).** «*Une nouvelle méthode d'apprentissage de données structurées : applications à l'aide à la découverte de médicaments*».Thèse de doctorat, Université PARIS 6 Pierre et Marie Curie, 135P.
- Hagmar L., Bonassi S., Stromberg U., Brogger A., Knudsen L.E., Norppa H., et al., (1998).** «*Chromosomal aberrations in lymphocytes predict human cancer: a report from the European Study*».15; 58(18):4117-21.

- Jani P., Mccarthy D., Florence A., (1994).** «*Titanium dioxide (rutile) nanoparticles uptake from the rat gastrointestinal tract and translocation to systemic organs after oral administration. International journal of pharmaceutics*».157–168.
- Jérémy V., (2010).** «*Le règlement 1907/2006 CE (Reach)*». 33P.
- Joanna M., Miriam Q., Miriam R., (2009).** «*Les nanoparticules et leurs déchets*». Projet de 3ème année, 75P.
- Lademann J., Weigmann H.J., Rickmeyer C., Barthelmes H., Schaefer H., Mueller G., Sterry W., (1999).** «*Penetration of titanium dioxide micro particles in a sunscreen formulation into the horny layer and the follicular orifice*». 247–256.
- Luther W., (2004).** «*Industrial application of nanomaterials-chances and risks. Technical report, Future Technolos Division of VDI Technologiezentrum*».
- Mao Y., et coll., (1995).** «*Protective effects of silanol group binding agents on quartz toxicity to rat lung alveolar cells. Applied Occupational and Environmental Hygiene*».10, 12, 1132-1137.
- Maron D., Ames B., (1983).** «*Revised methods for the Salmonella mutagenicity test*».113, 173-215.
- Mavon A., Miquela C., Lejeune O., Payre B., Moretto P., (2007).** «*In vitro percutaneous absorption and in vivo stratum corneum distribution of an organic and a mineral sunscreen*».10–20.
- Mélanie A., (2007).** «*Nanoparticules d'oxydes métalliques : relations entre la réactivité de surface et des réponses biologiques*».Thèse de doctorat, Université Paul Cézanne Aix-Marseille, III, 165P.
- Muller P., (2013).** «*Relations Structure-Activité pour le métabolisme et la toxicité*».Thèse de doctorat, Université de Strasbourg, 143P
- Nymark P., Catalan J., Suhonen S., et al., (2013).** «*Genotoxicity of polyvinylpyrrolidone-coated silver nanoparticles in BEAS 2B cells. Toxicology*».313: 38-48.
- Océane M., (2012).** «*Nutrition & Cancer Tour d'horizon sur les cancérigènes alimentaires*».32P.

- Oesch F., Landsiedel R., (2012).** «*Genotoxicity investigations on nanomaterials*». *Arch Toxicol*, 86: 985-94.
- Ophélie Z., (2008).** «*Etudes des interactions physicochimiques et biologiques entre des nanoparticules manufacturées et des bactéries de l'environnement*». Thèse de doctorat, Université Paris VI - Pierre et Marie Curie, 321P.
- Oser B.L., Hall R.L., (1977).** «*Criteria employed by the expert panel of FEMA for the GRAS evaluation of flavouring substances. Foodband Cosmetic Toxicology*». 15, 457.
- Ostiguy C., Lapointe G., Ménard L., Cloutier Y., Trottier H.M., Proximeduc M.B., Monty A., Normand C., (1980).** «*Les nanoparticules : connaissances actuelles sur les risques et les mesures de prévention en SST*». L'Institut de recherche Robert-Sauvé en santé et en sécurité du travail (IRSST), pairs ,90P.
- Picot A., (2012).** «*Les nanoparticules et leurs impacts Sur la sante et l'environnement*».ATC, Paris, 23P.
- Pitkethly M., (2003).** «*Nanoparticles as building blocks? NanoToday* ».42P.
- Phuong H.T.N., (2007).** «*Synthèse Et Etude Des Relations Structure/Activité Quntitatives PHE NANTHRIDINI QUES*». Thèse de doctorat, Université D'ANGERS, 133P.
- Puzyn T., Rasulev B., Gajewicz A., Hu X., Dasari T. P., Michalkova A., Hwang H.M., Toropov A., Leszczynska D., (2011)** «*Using nano-QSAR to predict the cytotoxicity of metal oxide nanoparticles*».175-178.
- Roduner E., (2006).** «*Size matters: why nanomaterials are different. Chemical Society Reviews*».35, 583-592.
- Sandra C., (2007).** «*Nanoluminophores inorganiques greffage de complexes de ruthénium (II) et d'euporium (III) sur nanoparticules de silice*».Thèse de doctorat, Université Paul Sabatier de Toulouse III, 167P.
- Thierry O., (2007).** «*Génotoxicité des nanomatériaux*».Faculté de Médecine, Marseille ,23P.
- Tinkle S. S., Antonini J. M., Rich B. A., Roberts J. R., Salmen R., DePree K., Adkins E. J., (2003).** «*Skin as a route of exposure and sensitization in chronic beryllium disease*».1202–1208.
- Tratnyek, P. G., Johnson R. L., (2006).** «*Nanotechnologies for environmental cleanup*». *Nano Today*, 1(2):44–48.

- Vincent F., (1993).** «Etude en géotoxicité de l'environnement marin ». Mémoire, 58P.
- Wang J.J., Sanderson B.J., Wang H., (2007a).** «*Cytotoxicity and genotoxicity of ultrafine crystalline SiO₂ particulate in cultured human lymphoblastoid cells. Environ Mol Mutagen*».48: 151-7.
- Wang J.J., Wang H., Sanderson B.J., (2007b).** «*Ultrafine Quartz-Induced Damage in Human Lymphoblastoid Cells in vitro Using Three Genetic Damage End-Points. Toxicol Mech Methods*». 17: 223-32.
- Win K.Y., Feng S., (2005).** «*Effects of particle size and surface coating on, cellular uptake of polymeric nanoparticles for oral delivery of anticancer drugs*». 26(15):2713–2722.
- Witschger O., Fabries J. F., (2005).** «*Particules ultra-fines et santé au travail. Caractéristiques et effets potentiels sur la santé. Hygiène et sécurité dutravail*».199P.
- Yamago S., Tokuyama H., Nakamura E., Kikuchi K., Kananishi S., Sueki K., Nakahara H., Enomoto S., Ambe F., (1995).** «*In vivo biological behavior of a water-miscible fullerene: ¹⁴C labeling, absorption, distribution, excretion and acute toxicity*». 385–389.
- Yang W., Peters J.I., Williams R.O., (2008).** «*Inhaled nanoparticles—a current review*».Int J Pharm, 356(1-2

Web graphie

- [1]-Maherou,J.,NorestS&FerrerL,(2012).Enligne.<[http://file:///C:/Users/bluray/PROBLAME/Destop/site/Association%20Sant%C3%A9%20Environnement%20France%20%20Les%20nanoparticules,%20petites%20mais%20toxiques%20%20%20%20%20%20%20%20Association%20Sant%C3%A9%20Environnement%20France.htm](http://file:///C:/Users/bluray/PROBLAME/Destop/site/Association%20Sant%C3%A9%20Environnement%20France%20%20Les%20nanoparticules,%20petites%20mais%20toxiques%20%20%20%20%20%20Association%20Sant%C3%A9%20Environnement%20France.htm)>. Consulté le 07/04/ 2014.
- [2]- «Avancées et limites **du** règlement **REACH** - Centre national de».Enligne.<<http://www.cnrs.fr/inc/recherche/docs/desmoulin.pdf>>.Consulté le 07/04/2014.
- [3]-Insilico_methods».Enligne.<http://www.orchestraqsar.eu/sites/default/files/Introductory_leaf_let_on_in_silico_methods_fr.pdf>. Consulté le 13/11/2013.
- [4]- «Reach-animal-testing » En ligne.
<http://echa.europa.eu/documents/10162/13630/reach_factsheet_animaltestingfr.pdf>
.Consulté le 05/03/2014.
- [5]- «QSAR-REACH».En ligne.<http://www.ineris.fr/centredoc/Dp_Pro-Reach.pdf>. Consulté le 18/04/2014.
- [6]- «Laboratory of Mathematical Chemistry».2013.Enligne<<http://toolbox.oasis-lmc.org/?Section=overview>>. Consulté le 16/11/2013.
- [7]-«(Q)SARsOECD».Enligne.<<http://www.oecd.org/chemicalsafety/testing/oecdquantitativestructure-activityrelationshipsprojectqsars.htm>>. Consulté le 18/04/2014.
- [8]- «Le logiciel QSAR Toolbox met la toxicologie à portée des PME».Enligne<<http://www.industrie-techno.com/le-logiciel-qsar-toolbox-met-la-toxicologie-a-portee-des-pme.14005>>. Consulté le 25/02/ 2014.
- [9]- Enligne. <http://www.qsartoolbox.org/doc/tutorials/tutorial_1.pdf>. Consulté le 12/03/2014.
- [10]- «(Q) SAR Toolbox - Assessment of chemicals - OECD» En ligne.
<<http://www.oecd.org/chemicalsafety/riskassessment/theoecdqsartoolbox.htm>>.
Consulté le 06/02/2014.
- [11]-<<http://www.google.dz/url?sa=t&rct=j&q=&esrc=s&source=web&cd=7&ved=0CE4QFjAG&url=http%3A%2F%2Ftel.archivesouvertes.fr%2Fdocs%2F00%2F12%2F29%2F95%2FDOC>>

[%2FThese_Monge.doc&ei=QiZpU9rqPKSt0QX3wIDgCw&usg=AFQjCNFpdysN5zZjJ7x83jiNlxOdOa928g](#) >. Consulté le 02/03/2014.

[12]- «QSARToolbox»Enligne.<http://www.qsartoolbox.org/doc/tutorials/tutorial_1.pdf >. Consulté le 16/02/2014.

[13]-«QSARinsilico»Enligne.<<http://www.ipubli.inserm.fr/bitstream/handle/10608/222/?sequence=29>>. Consulté le 05/03/2014.

[14]- «Nanoparticulesetsantéautravail».(2009).Enligne.<<http://www.suva.ch/nanoparticules> >. Consulté le 20/04/2014.

[15]- Jacques B Boisléve. « Conseil et formation Santé-Relation humaines » En ligne. <<http://www.sante-vivante.fr> > Consulté le 21/04/2014.

[16]- « Introduction a la modélisation moléculaire» En ligne. <<http://file:///C:/Users/Acer%202012/Desktop/gif/INTRODUCTION%20A%20LA%20MODELISATION%20MOLECULAIRE.htm> > Consulté le 18/04/2014.

[17]- «Agence nationale de sécurité du médicament et des produits de la santé. Recommandations relatives à l'évaluation toxicologique des médicaments sous forme nanoparticulaire» (2011). En ligne. <http://ansm.sante.fr/var/ansm_site/storage/original/application/7042aee471537987a082180039a5bded.pdf > Consulté le 05/04/2014.

[18]- «NANOGENOTOX. Facilitating the safety evaluation of manufactured nanomaterials by characterising their potential genotoxic hazard» En ligne. (2013). <www.nanogenotox.eu/files/PDF/nanogenotox_web.pdf > Consulté le 05/04/2014.

Résumé

Il est prévu que le nombre et la variété des nanoparticules vont augmenter rapidement au cours des prochaines années, et il y a un besoin pour de nouvelles méthodes pour tester rapidement la toxicité potentielle de ces matériaux. Parce que l'évaluation expérimentale de la sécurité des produits chimiques est coûteuse et prend du temps, les méthodes de calcul ont été trouvées à être des alternatives efficaces pour prévoir l'impact de la toxicité et de l'environnement potentiel des nouveaux nanomatériaux avant la production de masse. Ici, nous montrons que le procédé **Relations Quantitatives Structure-Activité (QSAR)** couramment utilisé pour prévoir les propriétés physico-chimiques des composés chimiques peut être appliqué pour prédire la toxicité de divers produits chimiques. Le modèle prédit de façon fiable la toxicité de tous les composés considérés, et la méthode est censée fournir des orientations pour la conception future des nanomatériaux en toute sécurité.

Mots clés : nanoparticules (silice), méthodes alternatives (**QSAR**), Méthode *in silico*, toxicologie prédictive, tests de génotoxicité.

Abstract:

It is expected that the number and variety of nanoparticles will increase rapidly over the next few years, and there is a need for new methods to quickly test the potential toxicity of these materials. Because the experimental evaluation of the safety of chemicals is expensive and takes time, calculation methods have been found to be effective alternatives to predict the impact of potential toxicity and environment before the new nanomaterials mass production. Here we show that the method **Quantitative Structure-Activity Relationship (QSAR)** commonly used to predict the physicochemical properties of chemical compounds can be applied to predict the toxicity of various chemicals. Reliably predicts the toxicity of all compounds considered, and the method model is intended to provide guidance for the future design of nanomaterials safely.

Keywords: nanoparticles (silica), alternative methods (**QSAR**), method *in silico*, predictive toxicology, genotoxicity tests.

المخلص :

من المتوقع أن يكون عدد وتنوع الجسيمات النانوية سوف يزداد بسرعة خلال السنوات القليلة المقبلة، ونحن بحاجة لطرق جديدة لاختبار بسرعة السمية المحتملة من هذه المواد. لأن التقييم التجريبي للسلامة من المواد الكيميائية مكلف ويستغرق وقتاً، تم العثور على طرق حسابية لتكون بدائل فعالة للتنبؤ بتأثير السمية المحتملة على الإنسان والبيئة من قبل الجسيمات النانوية

Résumé

الجديدة ذات الإنتاج الضخم . نحن هنا نبين بان أسلوب العلاقة الكمية بين البنية و النشاط يستعمل من اجل التنبؤ بالخصائص الفيزيائية و الكيميائية للمركبات الكيميائية التي يمكن أن تطبق من اجل التنبؤ بسمية المواد الكيميائية المختلفة. النموذج يتنبأ بسمية كل المركبات المحتملة بطريقة صحيحة، والنموذج تم توفيره لتصميم مستقبل للمواد متناهية الصغر بكل أمان.

الكلمات المفتاحية : الجسيمات النانوية ، طرق بديلة ، الأسلوب في سيليكون ، علم السموم التنبؤي، اختبارات السمية الجينية.