

---

---

**Nanotechnologies — Génération de  
nanoparticules de métal pour essais de  
toxicité par inhalation en utilisant la  
méthode de condensation/évaporation**

*Nanotechnologies — Generation of metal nanoparticles for inhalation  
toxicity testing using the evaporation/condensation method*

**iTeh STANDARD PREVIEW**  
**(standards.iteh.ai)**

ISO 10801:2010

<https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/f47db65a-425a-41b5-a9aa-91dfa6460ee5/iso-10801-2010>



**PDF – Exonération de responsabilité**

Le présent fichier PDF peut contenir des polices de caractères intégrées. Conformément aux conditions de licence d'Adobe, ce fichier peut être imprimé ou visualisé, mais ne doit pas être modifié à moins que l'ordinateur employé à cet effet ne bénéficie d'une licence autorisant l'utilisation de ces polices et que celles-ci y soient installées. Lors du téléchargement de ce fichier, les parties concernées acceptent de fait la responsabilité de ne pas enfreindre les conditions de licence d'Adobe. Le Secrétariat central de l'ISO décline toute responsabilité en la matière.

Adobe est une marque déposée d'Adobe Systems Incorporated.

Les détails relatifs aux produits logiciels utilisés pour la création du présent fichier PDF sont disponibles dans la rubrique General Info du fichier; les paramètres de création PDF ont été optimisés pour l'impression. Toutes les mesures ont été prises pour garantir l'exploitation de ce fichier par les comités membres de l'ISO. Dans le cas peu probable où surviendrait un problème d'utilisation, veuillez en informer le Secrétariat central à l'adresse donnée ci-dessous.

**iTeh STANDARD PREVIEW**  
**(standards.iteh.ai)**

[ISO 10801:2010](https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/f47db65a-425a-41b5-a9aa-91dfa6460ee5/iso-10801-2010)

<https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/f47db65a-425a-41b5-a9aa-91dfa6460ee5/iso-10801-2010>



**DOCUMENT PROTÉGÉ PAR COPYRIGHT**

© ISO 2010

Droits de reproduction réservés. Sauf prescription différente, aucune partie de cette publication ne peut être reproduite ni utilisée sous quelque forme que ce soit et par aucun procédé, électronique ou mécanique, y compris la photocopie et les microfilms, sans l'accord écrit de l'ISO à l'adresse ci-après ou du comité membre de l'ISO dans le pays du demandeur.

ISO copyright office  
Case postale 56 • CH-1211 Geneva 20  
Tel. + 41 22 749 01 11  
Fax + 41 22 749 09 47  
E-mail [copyright@iso.org](mailto:copyright@iso.org)  
Web [www.iso.org](http://www.iso.org)

Publié en Suisse

## Sommaire

Page

Avant-propos .....	iv
Introduction.....	v
1 <b>Domaine d'application</b> .....	1
2 <b>Références normatives</b> .....	1
3 <b>Termes et définitions</b> .....	1
4 <b>Principe</b> .....	3
4.1 <b>Génération</b> .....	3
4.2 <b>Préparation du système</b> .....	4
5 <b>Exigences</b> .....	4
5.1 <b>Capacité et contrôle</b> .....	4
5.2 <b>Propriétés des nanoparticules</b> .....	5
5.3 <b>Atmosphère de la chambre</b> .....	5
5.4 <b>Sécurité de fonctionnement du système</b> .....	5
6 <b>Caractérisation des performances du générateur</b> .....	6
6.1 <b>Exigences relatives à la distribution en taille des particules et à la concentration massique</b> .....	6
6.2 <b>Mesurage de la distribution en taille des particules</b> .....	6
6.2.1 <b>Échantillonnage au moyen de l'ADME</b> .....	6
6.2.2 <b>Échantillonnage pour microscopie</b> .....	6
6.3 <b>Concentration massique mesurée par échantillonnage sur filtre</b> .....	6
6.3.1 <b>Échantillonnage sur filtre pour mesurer la concentration massique de l'aérosol</b> .....	7
6.3.2 <b>Fréquence d'échantillonnage</b> .....	7
7 <b>Spécifications relatives à la génération de nanoparticules</b> .....	7
7.1 <b>Pureté des particules d'essai et impuretés</b> .....	7
7.2 <b>Gamme de tailles</b> .....	7
7.3 <b>Concentration numérique</b> .....	7
7.4 <b>Forme des nanoparticules</b> .....	7
7.5 <b>Stabilité</b> .....	8
7.6 <b>Exposition des animaux</b> .....	8
8 <b>Évaluation des résultats</b> .....	8
9 <b>Rapport d'essai</b> .....	8
<b>Annexe A (informative) Exemple de méthode de génération de nanoparticules d'argent par évaporation/condensation</b> .....	9
<b>Bibliographie</b> .....	21

## Avant-propos

L'ISO (Organisation internationale de normalisation) est une fédération mondiale d'organismes nationaux de normalisation (comités membres de l'ISO). L'élaboration des Normes internationales est en général confiée aux comités techniques de l'ISO. Chaque comité membre intéressé par une étude a le droit de faire partie du comité technique créé à cet effet. Les organisations internationales, gouvernementales et non gouvernementales, en liaison avec l'ISO participent également aux travaux. L'ISO collabore étroitement avec la Commission électrotechnique internationale (CEI) en ce qui concerne la normalisation électrotechnique.

Les Normes internationales sont rédigées conformément aux règles données dans les Directives ISO/CEI, Partie 2.

La tâche principale des comités techniques est d'élaborer les Normes internationales. Les projets de Normes internationales adoptés par les comités techniques sont soumis aux comités membres pour vote. Leur publication comme Normes internationales requiert l'approbation de 75 % au moins des comités membres votants.

L'attention est appelée sur le fait que certains des éléments du présent document peuvent faire l'objet de droits de propriété intellectuelle ou de droits analogues. L'ISO ne saurait être tenue pour responsable de ne pas avoir identifié de tels droits de propriété et averti de leur existence.

L'ISO 10801 a été élaborée par le comité technique ISO/TC 229, *Nanotechnologies*.

**iTeh STANDARD PREVIEW**  
**(standards.iteh.ai)**

[ISO 10801:2010](https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/f47db65a-425a-41b5-a9aa-91dfa6460ee5/iso-10801-2010)

<https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/f47db65a-425a-41b5-a9aa-91dfa6460ee5/iso-10801-2010>

## Introduction

On assiste à une croissance très rapide du nombre de produits grand public issus des nanotechnologies contenant des nanoparticules d'argent, d'or, de carbone, d'oxyde de zinc, de dioxyde de titane et de silice. Ainsi, l'augmentation du nombre d'applications entraîne une augmentation de la population susceptible d'être exposée à de tels produits. Les travailleurs de l'industrie des nanotechnologies, en particulier, sont soumis à un risque d'exposition aux nanoparticules manufacturées. Le public pourrait également être exposé dans le cas où des nanoparticules seraient émises par les produits finis.

Les connaissances sur la toxicité des particules de nanodimensions sont encore limitées, mais en progression. Les processus de fabrication des nanoparticules comprennent des processus en phase gazeuse, en phase vapeur, des processus colloïdaux et des processus d'attrition. Les modes d'exposition potentiels comportent l'inhalation, la voie dermique et l'ingestion. L'inhalation peut se produire à la suite d'une fuite directe issue de processus en phase gazeuse et en phase vapeur, d'une contamination aérienne du lieu de travail lors du dépôt ou de la récupération d'un produit et de sa manipulation, ou lors du traitement et du conditionnement après récupération<sup>[7]</sup>. Une exposition à des particules de nanodimensions manufacturées peut se produire en cours de fabrication, d'utilisation et d'élimination dans l'air ambiant ou sur le lieu de travail, et elle constitue un souci pour la santé du public et au travail.

Il n'existe actuellement aucune méthode globalement reconnue d'essais de toxicologie par inhalation de particules de nanodimensions, ni aucune méthode spécifique de génération de nanoparticules permettant ce genre d'essais. La capacité de disperser, à partir de poudres, des particules de nanodimensions respirables est un obstacle à l'évaluation des effets de l'inhalation de particules de nanodimensions sur le système respiratoire. Bien qu'il soit possible de disperser des nanoparticules dans l'air à partir de poudres, il arrive que la taille des particules produites soit plus grande que la taille voulue en raison d'agrégation et d'agglomération. Afin d'obtenir des informations fondamentales pour l'évaluation des effets des nanoparticules sur la santé, il convient de produire des particules de nanodimensions et de les transporter jusqu'à l'environnement d'essai où se trouvent des animaux d'expérience pour effectuer un essai de toxicité par inhalation de courte durée ou de longue durée. La méthode de génération de nanoparticules fondée sur l'évaporation d'un métal (dans cet exemple de l'argent) suivie d'une condensation permet d'assurer une distribution cohérente de la taille des particules et des concentrations numériques stables appropriées à une étude de toxicité par inhalation de courte durée ou de longue durée.

La présente Norme internationale fournit une méthode de génération de nanoparticules d'argent stables dont les dimensions atteignent 100 nm. Une méthode détaillée est décrite dans l'Annexe A. La méthode de génération fournie présente une stabilité suffisante pour un essai de toxicité par inhalation continue d'une durée allant jusqu'à 90 jours. Les nanoparticules générées peuvent être utilisées dans divers systèmes expérimentaux, parmi lesquels des laboratoires sur puce à cellules humaines à haut débit, diverses autres méthodes *in vitro*<sup>[8][9][10][11]</sup>, ainsi que les expériences sur animaux pouvant toujours être effectuées pour l'instant, y compris, sans que cela soit limitatif, sur le corps entier, sur la tête seule et sur le nez seul. Cette méthode n'est pas limitée aux nanoparticules d'argent utilisées dans cet exemple et peut être employée pour générer d'autres nanoparticules de métal ayant une température de fusion et une vitesse d'évaporation similaires, telles que l'or. Cette méthode ne peut toutefois pas s'appliquer à la génération de nanoparticules de tous les métaux.

**iTeh STANDARD PREVIEW**  
**(standards.iteh.ai)**

ISO 10801:2010

<https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/f47db65a-425a-41b5-a9aa-91dfa6460ee5/iso-10801-2010>

# Nanotechnologies — Génération de nanoparticules de métal pour essais de toxicité par inhalation en utilisant la méthode de condensation/évaporation

## 1 Domaine d'application

La présente Norme internationale donne des exigences et des recommandations pour générer des nanoparticules métalliques comme aérosols adéquats pour les essais de toxicité par inhalation par la méthode d'évaporation/condensation. Elle se limite aux métaux tels que l'or et l'argent, qui se sont révélés générer des nanoparticules appropriées aux essais de toxicité par inhalation lorsque ladite méthode est utilisée (voir Annexe A).

## 2 Références normatives

Les documents de référence suivants sont indispensables pour l'application du présent document. Pour les références datées, seule l'édition citée s'applique. Pour les références non datées, la dernière édition du document de référence s'applique (y compris les éventuels amendements).

ISO/TS 27687, *Nanotechnologies — Terminologie et définitions relatives aux nano-objets — Nanoparticule, nanofibre et nanofeuillet*

ISO 15900, *Détermination de la distribution granulométrique — Analyse de mobilité électrique différentielle pour les particules d'aérosol*

ISO/CEI 17025, *Exigences générales concernant la compétence des laboratoires d'étalonnages et d'essais*

Ligne directrice de l'OCDE 403, *Toxicité aiguë par inhalation*<sup>1)</sup>

Ligne directrice de l'OCDE 412, *Toxicité à doses répétées par inhalation: 28 jours*<sup>1)</sup>

Ligne directrice de l'OCDE 413, *Toxicité subchronique par inhalation: 90 jours*<sup>1)</sup>

## 3 Termes et définitions

Pour les besoins du présent document, les termes et définitions donnés dans l'ISO/TS 27687 et l'ISO 15900 ainsi que les suivants s'appliquent.

### 3.1

#### analyseur différentiel de mobilité électrique

##### ADME

système destiné à mesurer la distribution en taille de particules d'aérosols submicrométriques consistant en un CDME, un dispositif de conditionnement de la charge électrique des particules (neutralisateur), des débitmètres, un détecteur de particules, différents systèmes de connexion (tubes), un ordinateur et un logiciel approprié

NOTE Adapté de l'ISO 15900:2009, définition 2.8.

1) Organisation de coopération et de développement économiques (OCDE).

**3.2**  
**classificateur différentiel de mobilité électrique**  
**CDME**

spectromètre de mobilité électrique différentielle  
DEMS

classificateur capable de sélectionner des tailles de particules d'aérosol à partir d'une distribution y pénétrant et de fournir en sortie uniquement les tailles sélectionnées

NOTE 1 Un CDME classe les particules d'aérosol en équilibrant la force électrique sur chaque particule placée dans un champ électrique avec sa force de traînée aérodynamique. Les particules classées ont des tailles différentes en raison du nombre de leurs charges électriques ainsi qu'une plage étroite de mobilité électrique, déterminée par les conditions de fonctionnement et les dimensions physiques du CDME.

NOTE 2 Adapté de l'ISO 15900:2009, définition 2.7.

**3.3**  
**compteur de particules de condensation**  
**CPC**

appareil détectant les particules et pouvant être utilisé pour calculer la concentration numérique de particules à partir des valeurs connues de débit dans le détecteur

NOTE 1 Les dimensions de la gamme de particules détectées sont habituellement inférieures à quelques centaines de nanomètres et supérieures à quelques nanomètres. Un CPC est un détecteur qu'il est possible d'utiliser avec un CDME.

NOTE 2 Dans certains cas, un CPC peut également être appelé compteur de noyaux de condensation (CNC).

NOTE 3 Adapté de l'ISO 15900:2009, définition 2.5.

ITeC STANDARD PREVIEW  
(standards.iteh.ai)

**3.4**  
**chambre d'inhalation**  
**chambre, tête seule, nez seul**

système conçu pour exposer des animaux d'expérience à une substance d'essai inhalée pendant une durée et à une dose prédéterminées, soit uniquement par le nez seul, soit par la méthode d'exposition corps entier

NOTE 1 Le terme «nez seul» est synonyme de «tête seule» ou «museau seul».

NOTE 2 Adapté des lignes directrices de l'OCDE TG 403, 412 et 413.

**3.5**  
**générateur de nanoparticules par évaporation/condensation**

dispositif utilisé pour créer un aérosol de nanoparticules par la méthode d'évaporation/condensation, destiné à être relié à une chambre d'inhalation ou à un autre dispositif d'essai de toxicité

**3.6**  
**diamètre géométrique moyen**  
**DGM**

mesure de la tendance centrale d'une distribution en taille de particules, utilisant le logarithme du diamètre des particules, calculé pour l'ADME par

$$\ln(\text{DGM}) = \frac{\sum_{i=m}^n \Delta N_i \ln(d_i)}{N}$$

où

$d_i$  est le diamètre au milieu d'un canal de taille  $i$ ;

$N$  est la concentration totale;

$\Delta N_i$  est la concentration dans le canal de taille  $i$ ;

$m$  est le premier canal;

$n$  est le dernier canal.

NOTE Le DGM est normalement calculé à partir du nombre de particules et peut, si nécessaire, être fondé sur l'aire de surface ou sur le volume des particules avec une pondération appropriée.

### 3.7 écart-type géométrique GSD

mesure de la largeur ou de l'étendue des tailles de particules, calculée pour l'ADME par

$$\ln(\text{GSD}) = \sqrt{\frac{\sum_{i=m}^n N_i [\ln d_i - \ln(\text{DGM})]^2}{N - 1}}$$

### 3.8 diamètre médian en nombre CMD

diamètre égal au DGM pour un comptage de particules, dans l'hypothèse d'une distribution logarithmique normale

NOTE La forme générale de la relation telle que décrite dans l'ISO 9276-5 est la suivante:

$$\text{CMD} = x_{50,r} = x_{50,p} e^{(r-p)s^2}$$

où:

$e$  est la base du logarithme népérien,  $e = 2,718\ 28$ ;

$p$  est la dimensionnalité (type de quantité) d'une distribution, où

$p = 0$  est le nombre;

$p = 1$  est la longueur,

$p = 2$  est l'aire, et

$p = 3$  est le volume ou la masse;

$r$  est la dimensionnalité (type de quantité) d'une distribution, où

$r = 0$  est le nombre,

$r = 1$  est la longueur,

$r = 2$  est l'aire, et

$r = 3$  est le volume ou la masse;

$s$  est l'écart-type de la distribution de masse volumique;

$x_{50,r}$  est la taille médiane des particules d'une distribution cumulée de dimensionnalité  $r$ .

## 4 Principe

### 4.1 Génération

Les nanoparticules d'essai en suspension sont générées en chauffant de l'argent solide afin d'évaporer l'argent contenu dans ce précurseur solide. La vapeur d'argent entraînée est ensuite refroidie de sorte qu'il y ait nucléation et condensation pour former un aérosol de nanoparticules d'argent. Une méthode expérimentale de génération de nanoparticules d'argent par évaporation/condensation est décrite dans l'Annexe A.

## 4.2 Préparation du système

**4.2.1** Avant de relier le générateur de nanoparticules à la ou les chambres d'exposition, il convient d'effectuer une analyse de la taille des nanoparticules afin de déterminer les concentrations numériques et la distribution en taille des nanoparticules et d'évaluer la stabilité de l'aérosol généré. Les paramètres du processus choisis pour générer l'aérosol de nanoparticules d'argent comprennent notamment le débit, la température d'évaporation, la longueur de la zone de refroidissement, les gradients de température, etc. Durant les essais d'exposition, il convient de procéder, de manière continue et/ou par intervalles selon la méthode d'analyse, à des mesurages pour déterminer la cohérence de la distribution en taille des particules sans perturber l'exposition par inhalation.

**4.2.2** Les chambres d'inhalation et le matériel associé doivent être préparés conformément aux lignes directrices de l'OCDE 403, 412 et 413.

**4.2.3** Les chambres d'inhalation et le matériel associé doivent également être préparés pour les études d'exposition aux nanoparticules.

NOTE 1 Les nanoparticules en aérosol peuvent se déposer sur les parois par diffusion brownienne et la taille des particules peut changer du fait de l'agrégation/agglomération. Ce processus de déposition dépend de la taille des particules, de la charge électrostatique, de la concentration numérique des particules et du temps de séjour. Il convient de consulter le texte des normes relatives à la technique des aérosols (voir Référence [12]).

NOTE 2 Une neutralisation des charges peut être requise en fonction de l'objectif de l'étude.

Si la distribution des charges est une exigence de la caractérisation, cela doit être spécifié et elle doit être mesurée lors de l'étude.

NOTE 3 Pour diminuer les pertes par dépôt, il est préférable de choisir des tubes conducteurs le plus court possible et d'un diamètre correspondant au diamètre des tubes des instruments afin d'éviter tout élargissement et réduction.

**4.2.4** La ou les chambres d'inhalation et le matériel associé, par exemple les sondes d'échantillonnage et les collecteurs, doivent être caractérisés pour assurer la conformité avec les lignes directrices de l'OCDE 403, 412 et 413 ou de l'US EPA<sup>[31]</sup> afin de déterminer tout biais d'échantillonnage.

NOTE Les collecteurs d'échantillons qui consistent en des tubes conducteurs, des électrovannes et/ou d'autres éléments requis pour acheminer des échantillons de chaque chambre d'inhalation vers l'équipement de surveillance en ligne, sont susceptibles d'accroître les pertes en particules et d'altérer les distributions en taille des particules en aval dans le cas où les pertes dépendent de la taille des particules.

**4.2.5** Les instruments de mesure utilisés durant les essais d'inhalation doivent être étalonnés et/ou faire l'objet d'essais conformément à l'ISO/CEI 17025.

L'ADME est habituellement étalonné en usine et il convient de mentionner ce fait dans le rapport d'essai.

## 5 Exigences

### 5.1 Capacité et contrôle

La sortie, la fiabilité et la commande du générateur doivent être adaptées à l'étude prévue:

- a) vitesse d'évaporation du métal ( $\mu\text{g}/\text{h}$ );
- b) débit d'air ( $\text{m}^3/\text{h}$ );
- c) fonctionnement continu du générateur sous la vitesse d'évaporation et le débit d'air cibles pendant la durée d'étude à envisager.

## 5.2 Propriétés des nanoparticules

**5.2.1** Le DGM des nanoparticules doit être inférieur à 100 nm. Cela est réalisé principalement en contrôlant les vitesses d'évaporation et de condensation du métal et le temps de séjour dans chacune des zones de réaction. Si, même après avoir fourni un certain effort, cette exigence ne peut être satisfaite, il est nécessaire de recourir aux conseils d'un expert.

**5.2.2** Le GSD doit être inférieur à 2 (comme indiqué dans les lignes directrices de l'OCDE 403, 412, et 413).

**5.2.3** La pureté de l'article d'essai, notamment la pureté des particules et la pureté de la surface des particules, doit être déterminée pour satisfaire l'objectif de l'étude. Il convient de procéder, de préférence avant le début de l'étude, à une caractérisation de l'article d'essai, comprenant sa pureté et, si la technique le permet, les noms et les quantités de contaminants et d'impuretés inconnus (voir les directives de l'OCDE GD 39).

NOTE La détermination de la pureté chimique peut nécessiter une caractérisation de la chimie de surface des particules générées, en plus de la pureté chimique globale.

## 5.3 Atmosphère de la chambre

**5.3.1** L'air délivré aux animaux d'expérience doit être respirable, d'une teneur en oxygène appropriée d'au moins 19 % (voir les lignes directrices de l'OCDE 403, 412 et 413 et les lignes directrices de l'US EPA<sup>[31]</sup>).

Cela peut être réalisé en alimentant le générateur en air de dilution adéquat.

**5.3.2** Il faut prendre soin de ne pas générer de contaminants par évaporation de composés volatiles dans les liants, lubrifiants, finitions et produits d'étanchéité utilisés dans le générateur d'aérosol, en choisissant des matériaux appropriés et un étuvage adéquat du système.

**5.3.3** La température de l'air alimentant la chambre d'essai doit être comprise dans les limites requises pour des études par inhalation (voir les lignes directrices de l'OCDE 403, 412 et 413 et les lignes directrices de l'US EPA<sup>[31]</sup>).

**5.3.4** L'air alimentant le générateur et les chambres doit être exempt d'huile, de composés volatiles et d'autres contaminants, et il doit être filtré à l'aide d'un filtre HEPA afin d'éliminer les aérosols, comme les nanoparticules, la poussière et les micro-organismes.

## 5.4 Sécurité de fonctionnement du système

**5.4.1** Toutes les exigences de sécurité locales doivent être respectées.

**5.4.2** Éviter tout contact avec des surfaces chaudes et des conducteurs électriques associés au dispositif de chauffage électrique ou à d'autres composants.

**5.4.3** Les gaz en sortie du système libérés dans l'atmosphère doivent être filtrés à l'aide d'un filtre HEPA.

**5.4.4** Aucune fuite mesurable vers l'atmosphère, issue du générateur d'aérosol, ne doit exister.

**5.4.5** Il convient de maintenir la chambre d'exposition sous une pression négative ( $\leq 5$  mm d'eau) par rapport aux conditions ambiantes pour éviter l'exposition des travailleurs en cas de fuite. Il convient de surveiller la différence de pression de façon continue et de prendre des dispositions pour la maintenir dans les limites de déclenchement de l'alarme. Une autre approche consiste à maintenir l'appareillage sous une pression positive par rapport aux conditions ambiantes afin de s'assurer que les aérosols ou les contaminants en suspension ne puissent pas pénétrer dans la chambre d'exposition. Il convient de confiner l'appareillage sous pression positive à l'intérieur d'un récipient secondaire ventilé afin de minimiser l'exposition des travailleurs.

Pour le mode d'exposition nez seul, il convient que la pression soit légèrement positive pour garantir que les animaux seront exposés de façon appropriée. Au vu des fuites potentielles dues à cette pression positive, il convient d'effectuer les expériences de type nez seul sous une hotte ventilée conçue de manière adéquate (voir les directives de l'OCDE GD 39).

NOTE Des recherches régulières de fuite, par exemple par la méthode des bulles de savon ou par l'installation de détecteurs de fuite permanents, peuvent s'avérer nécessaires s'il existe un risque de fuite du nanomatériau. Dans les dispositifs d'exposition nez seul, l'atmosphère d'essai pourrait se répandre autour de l'animal depuis le point de contact avec l'appareillage d'exposition. Il est possible de prévenir les fuites en utilisant un système de retenue qui scellerait le tube, bien que l'accumulation de chaleur et d'humidité dans le tube pose problème<sup>[29]</sup>.

## 6 Caractérisation des performances du générateur

### 6.1 Exigences relatives à la distribution en taille des particules et à la concentration massique

Des mesurages de la distribution en taille des particules en nombre et de la concentration massique totale des particules sont essentiels à la caractérisation des nanoparticules pour les essais de toxicité par inhalation. Le mesurage de la distribution en taille des particules peut s'avérer capital car les informations sur la taille des particules influent sur la dose et sur la distribution de dose. La concentration massique constitue le paramètre dosimétrique utilisé habituellement lors des essais de toxicité par inhalation. Les mesurages de la distribution en taille des particules et de la concentration massique totale des particules doivent toujours être effectués lorsqu'il s'agit d'évaluer le générateur d'aérosol de nanoparticules utilisé dans le cadre des essais de toxicité par inhalation.

### 6.2 Mesurage de la distribution en taille des particules

La méthode doit inclure une surveillance presque continue fondée sur la vitesse de balayage des instruments de classification et de détection, avec une résolution temporelle adaptée pour vérifier la stabilité du générateur de nanoparticules en termes de distribution en taille des particules et de concentration. La méthode de mesure doit englober tous les aérosols de nanoparticules produits par le générateur. L'exactitude des mesurages de la taille des particules et de la concentration doit être suffisante pour les essais de toxicité des nanoparticules et elle peut être validée par des méthodes telles que l'étalonnage par rapport aux normes de référence appropriées. La gamme de diamètres des particules dont les dimensions sont mesurées doit être assez large pour permettre l'enregistrement de toutes les données pertinentes et par conséquent pour réduire les erreurs de conversion entre distribution en nombre, en surface ou en volume.

NOTE Pour la distribution en taille des particules en nombre, le mesurage au moyen de l'ADME est la seule méthode actuellement disponible satisfaisant toutes les exigences ci-dessus avec une gamme de tailles inférieures à 100 nm.

#### 6.2.1 Échantillonnage au moyen de l'ADME

Il convient de mesurer les nanoparticules en suivant les recommandations du fabricant et conformément à l'ISO 15900.

#### 6.2.2 Échantillonnage pour microscopie

Les filtres sur lesquels sont échantillonnées les particules doivent être recouverts de carbone (pour empêcher que le filtre ne se charge trop pendant l'analyse), montés sur une grille de microscope électronique (200 mailles) et observés sous un microscope électronique en transmission (MET). Il convient de mesurer le diamètre de particules choisies au hasard avec un grossissement de  $\times 100\,000$  et de les analyser en utilisant un analyseur à rayons X à dispersion d'énergie (EDXA) avec une tension d'accélération appropriée pour la cible. L'ISO 10312<sup>[3]</sup> peut se révéler adaptée pour déterminer la morphologie des nanoparticules par échantillonnage et analyse. D'autres détails relatifs à l'échantillonnage peuvent être obtenus auprès d'autres sources<sup>[6][13][15][17][18][27]</sup>.

### 6.3 Concentration massique mesurée par échantillonnage sur filtre

La méthode utilisée pour mesurer la concentration totale des nanoparticules présentes dans l'atmosphère d'essai échantillonnée à partir de la zone de respiration de l'animal est la gravimétrie sur filtre. La concentration massique est calculée en divisant la masse des nanoparticules récupérées sur le filtre par le volume d'air ayant circulé à travers le filtre.