

Le directeur général

Maisons-Alfort, le 4 août 2017

AVIS

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

relatif à la demande d'autorisation d'emploi du 3-(méthacryloyloxy)-propyl-triméthoxysilane (MEMO) n°CAS 2530-85-0 dans les matériaux et objets en silicone destinés au contact alimentaire

L'Anses met en œuvre une expertise scientifique indépendante et pluraliste.

L'Anses contribue principalement à assurer la sécurité sanitaire dans les domaines de l'environnement, du travail et de l'alimentation et à évaluer les risques sanitaires qu'ils peuvent comporter.

Elle contribue également à assurer d'une part la protection de la santé et du bien-être des animaux et de la santé des végétaux et d'autre part l'évaluation des propriétés nutritionnelles des aliments.

Elle fournit aux autorités compétentes toutes les informations sur ces risques ainsi que l'expertise et l'appui scientifique technique nécessaires à l'élaboration des dispositions législatives et réglementaires et à la mise en œuvre des mesures de gestion du risque (article L.1313-1 du code de la santé publique).

Ses avis sont rendus publics.

L'Anses a été saisie le 9 octobre 2015 par la Direction Générale de la Concurrence, de la Consommation et de la Répression des Fraudes (DGCCRF) d'une demande d'avis relatif à la demande d'autorisation d'emploi du 3-(Méthacryloyloxy)-propyl-triméthoxysilane (MEMO) - CAS 2530-85-0 dans les matériaux et objets en silicone destinés au contact alimentaire.

Dans des courriers datés du 10 mars et du 14 décembre 2016 et adressés à la DGCCRF, l'Anses a demandé des compléments d'information concernant : l'unité employée pour le dosage du MEMO, l'identification des impuretés et la stabilité thermique du MEMO, des données d'exposition et de toxicologie liées aux impuretés du MEMO. Ces informations ont été transmises à l'Anses le 2 août 2016 et le 11 mai 2017.

1. CONTEXTE ET OBJET DE LA SAISINE

La présente demande porte sur l'ajout du 3-(méthacryloyloxy)-propyl-triméthoxysilane (MEMO) dans la liste des substances autorisées de l'article 2 de l'arrêté français du 25 novembre 1992¹. Le MEMO est utilisé en tant qu'agent de couplage dans la fabrication des élastomères de silicones

¹ Arrêté français du 25 novembre 1992 relatif aux matériaux et objets en élastomères de silicone mis ou destinés à être mis au contact des denrées, produits et boissons alimentaires.

afin d'améliorer leurs propriétés mécaniques. Il est prévu que les produits finis en élastomères de silicones soient destinés à la fabrication d'ustensiles de cuisine, de moules à pâtisserie ou de feuilles de cuisson et ce pour tous types d'aliments (aqueux, alcoolisés, gras, acides, solides, liquides).

Au niveau européen, l'ensemble des matériaux et objets destinés à entrer en contact avec des denrées alimentaires est réglementé par le règlement (CE) n°1935/2004. En l'absence d'harmonisation européenne, les mesures réglementaires spécifiques concernant les silicones destinées au contact des aliments sont décrites dans l'arrêté français du 25 novembre 1992.

Conformément à l'arrêté du 13 novembre 1986², toute demande d'emploi en France d'une nouvelle substance destinée à la fabrication de matériaux et objets destinés au contact des aliments doit être accompagnée d'un dossier conforme à l'article 2 de cet arrêté. L'avis du Conseil supérieur d'hygiène de France (CSHPF) du 9 décembre 1997³ précise les éléments constitutifs du dossier de demande d'emploi d'une substance et l'instruction du 27 novembre 1986 détaille les protocoles d'expérimentation physio-toxicologique⁴.

2. ORGANISATION DE L'EXPERTISE

L'expertise a été réalisée dans le respect de la norme NF X 50-110 « Qualité en expertise – Prescriptions générales de compétence pour une expertise (Mai 2003) ».

L'expertise collective a été réalisée par le groupe de travail pérenne (GT) « Évaluation des substances et procédés soumis à autorisation en alimentation humaine » (GT ESPA), réuni le 21 janvier et 29 février 2016. Les conclusions des experts ont été présentées, débattues et validées lors de la séance du 15 juin 2017. Cette expertise a porté sur les éléments suivants :

- Le dossier technique du pétitionnaire
- Les compléments d'information apportés par le pétitionnaire

Les discussions et réflexions du GT ont porté sur les éléments suivants :

- L'arrêté du 25/11/1992
- L'arrêté du 13/11/1986
- L'instruction du 27/11/1986
- L'avis du CSHPF du 9/12/1997
- La note for guidance for Food Contact Materials de l'EFSA du 30/07/2008
- Les réglementations, recommandations, avis et opinions relatives principalement à l'évaluation des risques sanitaires des MCDA des autorités scientifiques nationales et internationales (AFSSA, ANSES, EFSA, OCDE...)
- La consultation de bases de données scientifiques (Pubmed, Toxnet, NTP, eChemPortal, FURETOX, OECD Screening Information Data Set (SIDS)).

² Arrêté du 13 novembre 1986 relatif aux dossiers de demande d'autorisation d'emploi des constituants de matériaux et objets mis ou destinés à être mis au contact des denrées, produits et boissons alimentaires.

³ Avis du Conseil supérieur d'hygiène publique de France relatifs aux matériaux au contact des denrées alimentaires Séances du 14 octobre et du 9 décembre 1997 (Demandes d'autorisation d'emploi).

⁴ Instruction du 27 novembre 1986 concernant l'application de l'arrêté du 13 novembre 1986 relatif aux dossiers de demande d'autorisation d'emploi des constituants de matériaux et objets mis ou destinés à être mis au contact des denrées, produits et boissons alimentaires.

L'Anses analyse les liens d'intérêts déclarés par les experts avant leur nomination et tout au long des travaux, afin d'éviter les risques de conflits d'intérêts au regard des points traités dans le cadre de l'expertise.

Les déclarations d'intérêts des experts sont rendues publiques *via* le site internet de l'Anses (www.anses.fr).

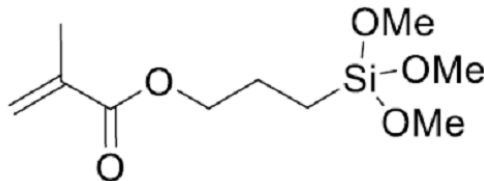
3. ANALYSE ET CONCLUSIONS DU GT ESPA

3.1. Analyse des données physico-chimiques

3.1.1. Identité de la substance

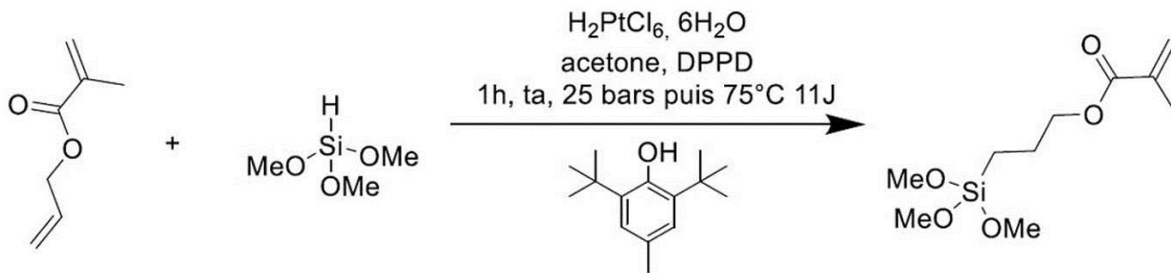
Les principales données relatives au 3-(méthacryloyloxy)-propyl-triméthoxysilane (MEMO) aussi nommé 3-(Triméthoxysilyl)propyl méthacrylate (IUPAC) ou 2-Propénoate de 2-méthyl, 3-(triméthoxysilyl)propyl ou 3-(Méthacryloxy)propyltriméthoxysilane ou Méthacrylate de 3-triméthoxysilylpropyle sont résumées dans le tableau 1 ci-dessous.

Tableau 1 : principales données relatives à l'identité du MEMO

Dénomination	3-(méthacryloyloxy)-propyl-triméthoxysilane
Numéro CAS	2530-85-0
Formule brut	C ₁₀ H ₂₀ O ₅ Si
Formule semi-développée	
Masse molaire	248,35 g/mol

Le MEMO est un silane organo-fonctionnel défini par un groupe organique et un groupe inorganique réactif à l'hydrolyse. Le caractère bi-fonctionnel de ces silanes leur permet de réagir à la fois avec des substrats organiques et inorganiques.

Plusieurs voies de synthèse du MEMO sont décrites dans la littérature. Le fournisseur du pétitionnaire utilise un procédé continu de synthèse du MEMO par hydrosilylation impliquant le méthacrylate allylique et le triméthoxysilane (TMOS) comme schématisé ci-dessous :



Du fait de la réactivité des produits, la synthèse du MEMO s'accompagne de réactions secondaires qui génèrent des produits de réactions non intentionnels. Afin d'obtenir une pureté du MEMO à 99% (spécification annoncée par le fournisseur), des étapes de filtration, de purification sur colonne et de distillation sont réalisées à l'issue de la synthèse. Pour des raisons de confidentialité, le fournisseur n'a pas communiqué au pétitionnaire la nature de toutes les impuretés contenues dans le MEMO commercialisé. Dans sa fiche de spécifications du produit, seuls sont mentionnés les chlorures hydrolysables en quantités inférieures à 2 mg/kg. Pour compléter ces données, le pétitionnaire a réalisé une étude bibliographique. Cette étude explore les différentes voies de synthèse du MEMO ainsi que sa réactivité et liste les impuretés potentielles du produit fini en expliquant leur présence par des propositions de mécanismes réactionnels. Le pétitionnaire a conclu à la présence potentielle des 3 groupes d'impuretés suivants:

- Réactifs de départ et leurs dérivés :
 - Réactifs siliciés
 - Réactifs avec fonction méthacrylate
- Produits issus de réactions des réactifs de départ:
 - Produits d'auto-réaction
 - Produits ramifiés / isomères
 - Produits d'hydrogénation
- Produits de condensations du MEMO (produits d'oligomérisation comme des dimères et des trimères et produits issus d'une γ -substitution) :
 - Trimères
 - Produits de γ -substitution

Ces impuretés ont été identifiées par chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse. En complément, une analyse par HPLC a permis de doser l'acide méthacrylique résiduel. L'analyse des chromatogrammes indique la présence de 9 pics susceptibles de correspondre à 9 impuretés liées au MEMO. L'identité de 2 substances (le 3-chloropropyl-triméthoxysilane et l'acide méthacrylique) a pu être déterminée en effectuant des ajouts dosés de substances pures. Les 7 autres substances n'étaient pas connues à l'issue de cette analyse. Pour identifier les 7 substances inconnues, le pétitionnaire a utilisé les résultats de l'étude bibliographique présente dans son dossier. Celle-ci décrit les mécanismes réactionnels du MEMO ainsi que les substances issues de ces réactions. Pour identifier les impuretés, le pétitionnaire propose des structures basées sur les mécanismes réactionnels et justifie l'identité

des molécules à partir des fragments observés dans les spectres de masse. L'interprétation de ces spectres de masse lui permet de présenter une liste d'impuretés potentiellement présentes dans le MEMO.

Les substances que le pétitionnaire a pu identifier sont les suivantes :

- Chloropropyl triméthoxysilane
- Acide méthacrylique
- 3,3,7,7-tétraméthoxy-2,8-dioxa-3,7-disilanonane
- 3,3,6,6-tetramethoxy-4-methyl-2,7-dioxa-3,6-disilaoctane
- 2-(triméthoxysilyl)propyl méthacrylate
- 2-(triméthoxysilyl)propyl isobutyrate
- 2-(triméthylsilyl)propyl 4-(méthacryloyloxy)-2,2,3- triméthylbutanoate
- 3-(ethoxydimethoxysilyl)propyl methacrylate
- (1,1,3,3-tetraméthoxydisiloxane-1,3-diyl)bis(propane-3,1 -diyl) bis(2-méthylacrylate)

3.1.2. Propriétés physico-chimiques

Le MEMO est liquide à température ambiante et solide en dessous de -20°C . Son point d'ébullition a été mesuré à 255°C à 1013 hPa. Une analyse thermo-différentielle (DTA) couplée à une analyse thermogravimétrique (ATG) montre que le MEMO ne présente pas de réaction exothermique sur une plage de température allant de 100 à 300°C .

Au vu des températures d'utilisation des produits finis, le pétitionnaire a effectué des mesures de stabilité thermique du MEMO ainsi que du matériau en silicone contenant le MEMO. Au vu des données de la littérature, les hautes températures ne peuvent à elles seules permettre la polymérisation du MEMO. Des analyses thermogravimétriques soulignent que la dégradation des matériaux en silicone avec ou sans MEMO est observée au-delà de 250°C . Ainsi, la dégradation thermique de l'élastomère de silicone avec MEMO à 0,7% (m/m) intervient à une température supérieure aux températures maximales rencontrées lors des étapes de fabrication du matériau fini (115°C lors de la réticulation et 200°C lors du recuit) et au-delà des plages annoncées d'utilisation par les consommateurs situées entre -18°C et 250°C .

Le MEMO est non miscible dans l'eau et se décompose à son contact en s'hydrolysant. Il génère du méthanol et des polymères de MEMO qui forment un gel hautement réticulé. Le MEMO est soluble dans les alcools et les hydrocarbures aliphatiques et aromatiques. Le coefficient de partage octanol / eau n'a pu être déterminé étant donné la réactivité et l'instabilité du MEMO dans l'eau. Le MEMO possède une fonction méthacrylique qui réagit avec les chaînes élastomères de silicone et les fonctions méthoxysilanes (Si-OCH₃) hydrolysées en milieu aqueux.

3.1.3. Utilisation intentionnelle de la substance

Le MEMO est utilisé en tant qu'agent de couplage des matériaux inorganiques (charges) qui sont incorporés dans les élastomères de silicone. La fonction méthacrylique du MEMO réagit avec les groupements vinyliques de la gomme de PDMS (polydiméthylsiloxanes). La fonction alcoxysilane du MEMO peut s'hydrolyser pour former des fonctions silanols qui vont se condenser avec d'autres groupements silanols de la silice facilitant la dispersion des charges pour obtenir des

propriétés mécaniques améliorées. Les élastomères de silicone sont réticulés dans le procédé de moulage à une température maximale de 115°C pendant quelques minutes sous pression. Lors de l'étape de recuit, la température maximale est de 200°C pendant 4 heures en milieu ventilé (recommandation faite par le pétitionnaire à ces clients). Cette cuisson ultérieure permet de finaliser les réactions de polymérisation dans le matériau et permet également de s'affranchir des composés volatiles (substances de départ, produits de réaction). En effet, les matériaux en silicone ne doivent pas relarguer plus de 0,5% (m/m) de leur poids en matière volatile⁵.

3.1.4. Usages du produit fini

Les élastomères de silicone sont principalement destinés au marché des articles de cuisine (moules pour la fabrication de pâtisseries et de gâteaux, papillotes pour la cuisson de viandes et de poissons, feuilles de cuisson pour pizza et pâtes fraîches, moules cubiques pour la congélation de glaçons, ustensiles de cuisine de type cuillères, spatules, gants de protection...) et peuvent être mis au contact de toutes les catégories d'aliment. Les températures d'utilisation des articles en élastomères de silicone peuvent varier de -18°C à 250°C. Les temps de contact prévisibles s'étendent sur une gamme de quelques minutes pour les ustensiles de cuisine à moins d'1 heure pour les moules de cuisson et à plusieurs mois pour les moules de congélation.

3.1.5. Autorisations de la substance

Le MEMO n'est pas autorisé dans les réglementations nationales sur les silicones des Etats membres de l'Union européenne. Cependant, le BfR (Bundesinstitut für risikobewertung) l'autorise comme promoteur d'adhésion de mastics (charges), une famille de substances qui inclut le MEMO (recommandation LII - Fillers)⁶. La dénomination employée est « alcoxysilanes ayant des groupes fonctionnels, tels que vinyle, méthacryl, amino ou glycidyl ». La quantité maximale permise est de 0,5% (m/m) par rapport à la charge ou 0,3% (m/m) par rapport au matériau fini.

Au niveau de la réglementation de l'Union européenne, le MEMO figure dans la liste des substances autorisées du règlement UE n°10/2011⁷ comme agent de traitement de surface de charges inorganiques dans la fabrication des matières plastiques destinées au contact des aliments (PM/Ref n° 21498, FCM n°788).

3.1.6. Conclusion sur les données physico-chimiques

Pour la partie concernant l'identification de la substance MEMO, l'utilisation attendue, les propriétés physico-chimiques et les données de migration, le dossier présenté par le pétitionnaire reprend le formalisme et les renseignements requis par les Notes for Guidance de l'EFSA, en partie complétées par les informations spécifiques demandées par la réglementation française. Le GT ESPA regrette que le pétitionnaire n'ait pas fourni de mesure du pourcentage de perte en matières volatiles (limite à 0,5 % m/m). En effet, ces données sont requises par la réglementation française dans le cadre de l'évaluation de la conformité de silicones pour contact alimentaire. Ces

⁵ Arrêté du 25 novembre 1992 relatif aux matériaux et objets en élastomères de silicone mis ou destinés à être mis au contact des denrées, produits et boissons alimentaires.

⁶ Recommandation du BfR LII version du 01/01/2012.

⁷ Règlement (UE) n°10/2011 de la commission du 14 janvier 2011 concernant les matériaux et objets en matière plastique destinés à entrer en contact avec des denrées alimentaires.

analyses auraient pu être conduites sur les matériaux finis testés dans le cadre de l'évaluation de la teneur résiduelle en MEMO.

3.2. Analyse des données d'exposition

3.2.1. Données de migration

Migration spécifique

Aucune analyse de migration spécifique du MEMO n'a été fournie par le pétitionnaire dans le dossier. Cependant, cette donnée peut être omise lorsque la quantité résiduelle de la substance dans le produit fini a été déterminée après extraction à l'aide d'une méthode d'analyse adaptée afin d'effectuer un calcul de migration totale (pire des cas).

Migration globale

Concernant les tests de migration globale, aucune analyse n'a été réalisée sur des échantillons de silicone formulés avec le MEMO, considérant que cette substance n'avait pas d'impact sur la migration des autres constituants du matériau. Cette donnée n'est en général pas requise dans le cas d'une demande concernant un monomère, une substance de départ ou un additif.

3.2.2. Données sur la teneur résiduelle de la substance dans le matériau

Afin d'évaluer l'exposition du consommateur au MEMO, le pétitionnaire se propose dans un premier temps de déterminer la teneur résiduelle du MEMO dans un matériau en silicone suite à des étapes d'extraction par du dichlorométhane. Cette teneur dans le matériau permet de calculer une valeur de migration ainsi qu'un niveau d'exposition théorique (NET) avec pour hypothèse que 100 % du MEMO migre dans l'aliment (scénario du pire cas).

Méthode

Des teneurs résiduelles en MEMO ont été déterminées dans 5 lots de feuilles d'élastomères de silicone avec une concentration de départ en MEMO de 0,7 % (m/m). L'extraction a été effectuée par du dichlorométhane (3 jours à 40°C) et le MEMO a été dosé par chromatographie en phase gazeuse couplée à une détection à ionisation de flamme (GC/FID) à l'aide de la méthode des ajouts dosés dans des extraits concentrés et additionnés d'un étalon interne (butylhydroxyanisole et Tinuvin 234).

Sur les 40 mL de dichlorométhane utilisés pour l'extraction, 33 ont pu être récupérés du fait du gonflement des échantillons de silicone. Le laboratoire a considéré que le MEMO extrait était réparti de façon homogène et a appliqué un facteur de correction de 1,21 (40/33) pour tenir compte de la perte d'une partie du MEMO qui restait dans le solvant piégé dans le matériau.

Estimation de la migration par calcul selon un scénario du pire cas

La limite de détection du MEMO dans l'extrait au dichlorométhane a été calculée à 0,5 µg/mL de solvant soit 76 µg/kg de silicone. Cette limite de détection a été déterminée à partir de la droite d'étalonnage du MEMO. En considérant l'ensemble des étapes analytiques (incluant l'extraction), l'intervalle de confiance à 95% pour le dosage du MEMO est de ± 116 µg/kg de silicone pour une gamme de concentration variant de 50 à 1000 µg/kg de silicone.

Au vu de la proximité de leur structure chimique, le laboratoire a considéré que les coefficients de réponse pour les impuretés seraient proches de celui du MEMO soit 76 µg/kg de silicone. Suite aux mesures de teneurs résiduelles, le MEMO n'a pas été détecté au-dessus de la limite de détection de 76 µg/kg de silicone. Ainsi, le laboratoire a calculé que, sur la base d'un ratio surface de matériau / masse d'aliment de 6 dm²/kg pour une feuille de 2 mm d'épaisseur et de masse volumique de 1,2 g/cm³, la migration totale de MEMO et donc le NET serait de 10,7 µg/kg d'aliment, arrondi à 11 µg/kg d'aliment.

Dans le cas des 9 impuretés identifiées par le pétitionnaire, l'acide méthacrylique a été dosé par chromatographie liquide haute performance (HPLC). Le calcul de migration donne une valeur de 162 µg/kg d'aliment soit une valeur inférieure à la limite de migration spécifique (LMS) de cette substance pour les matières plastiques qui figure dans le règlement UE n°10/2011 (LMS = 6 mg/kg d'aliment).

Pour les 8 autres impuretés, le pétitionnaire propose, dans un premier temps, de déterminer des niveaux de migration dans l'aliment en supposant que la totalité des impuretés présentes lors de la formulation du matériau ne réagissent pas avec la matrice silicone et que la totalité de ces impuretés migrent dans l'aliment. Ces valeurs varient de 0,6 à 6000 mg/6 dm² d'emballage (ou mg/kg d'aliment).

Le pétitionnaire propose également une seconde approche basée cette fois-ci sur des analyses en chromatographie liquide couplée à de la spectrométrie de masse bidimensionnelle (LC-MS-MS). Cette approche permet d'abaisser la limite de détection d'un facteur 30 par rapport à la GC-MS, soit 2 µg de MEMO/kg de silicone. Des extractions ont été effectuées sur des feuilles en silicone avec ou sans MEMO puis ce dernier a été quantifié par la technique des ajouts dosés à partir de solutions étalons. Chacune des analyses a été dupliquée. Le pétitionnaire rapporte que la quantité de MEMO extraite est plus importante pour les feuilles ne contenant pas initialement de MEMO. Le pétitionnaire suppose que ces résultats pourraient s'expliquer par la présence, dans le matériau en silicone pur, de MEMO et d'impuretés présentant les mêmes propriétés. Ainsi, les niveaux de migration calculés à partir des extractions sont respectivement de 9,2 et de 2,5 µg/kg d'aliment pour le matériau sans et avec MEMO. Ces nouvelles analyses en LC-MS-MS mettent en lumière la présence de 5 impuretés pour lesquelles aucune identification ni correspondance avec les 9 impuretés précédemment identifiées par le pétitionnaire n'ont été effectuées. Ces 5 fragments (impuretés) sont dénommés par leur ratio *m/z* issus des analyses en spectrométrie de masse. Selon le pétitionnaire, 4 de ces substances correspondraient à des hydrolysats du MEMO et la cinquième à un dimère du MEMO. Ces 5 fragments n'ont pas été détectés au-dessus de leur limite de détection respective. Au même titre que le MEMO, les niveaux de migration pour ces 5 impuretés ont été déterminés à partir d'un scénario du pire cas, les niveaux rapportés sont les suivants :

m/z	LOD (mg/kg matériau)	Migration (µg/kg d'aliment)	NET (µg/personne/j)
203	0,1	14	14
252	0,1	14	14
257	1	141	141
273	1	141	141
413	0,001	0,15	0,15

Au vu des niveaux de NET calculés, le pétitionnaire doit, selon les lignes directrices, fournir 2 tests de génotoxicité pour les substances dont le NET est compris entre 0,5 et 50 µg/personne/j ou 2 tests de génotoxicité + une étude par voie orale sur 90 jours + des données de bioaccumulation pour les substances dont le NET est compris entre 50 et 5 000 µg/personne/j.

3.2.3. Conclusion sur les données d'expositions

L'identification et le calcul des niveaux de migration pour les impuretés ont été effectués selon 2 approches par le pétitionnaire. Dans la première approche, le pétitionnaire identifie 9 substances dont 2 sont identifiées par GC-MS et les 7 autres par des données issues de la littérature et par spectrométrie de masse. Dans la seconde approche, le pétitionnaire identifie 5 fragments issus d'analyse par LC-MS-MS. Le GT regrette qu'aucune correspondance ne soit établie entre ces 5 fragments et les 9 impuretés précédemment identifiées. De plus, les données d'exposition ne sont ni commentées ni exploitées par le pétitionnaire.

3.3. Données toxicologiques

3.3.1. Données de génotoxicité

Le MEMO a déjà été évalué et autorisé en tant qu'agent de couplage des matériaux inorganiques (charges) sous la référence PM REF 21498 ou FCM n°788 pour la fabrication des matériaux en plastique au contact des denrées alimentaires selon le règlement UE n°10/2011. Le pétitionnaire s'est donc basé sur les données toxicologiques présentes dans l'avis de l'EFSA concernant la sécurité du MEMO (EFSA Journal (2007) 601-609, 1-24). Les données de génotoxicité sur le MEMO figurant dans le dossier du pétitionnaire concernent les tests suivants:

- Essais *in vitro* de mutations géniques sur bactérie.
- Essais *in vitro* de mutations géniques sur cellules de mammifères.
- Essais *in vitro* d'aberrations chromosomiques sur cellules de mammifères.
- Essais *in vitro* d'échanges de chromatides-sœurs sur cellules de mammifères.
- Test *in vivo* du micronoyau sur sang périphérique de rongeurs.

- **Test de mutations géniques sur bactéries (test d'Ames)**

L'étude du potentiel mutagène du MEMO a été conduite avec et sans activation métabolique exogène (S9 mix) sur 5 souches de *Salmonella* Typhimurium (TA98, TA100, TA1535, TA1537, TA1548) et sur une souche d'*Escherichia coli* (WP2 uvrA). Dans la littérature, 4 études sont rapportées. Trois d'entre elles sont conformes à la ligne directrice n°471 de l'OCDE, à celle de

l'EPA ou à la directive 2000/32/CE, et suivent les principes des bonnes pratiques de laboratoire (BPL) de l'OCDE (OCDE, 1998). Les témoins négatifs (diméthylsulfoxyde ou méthanol) et les témoins positifs (2-aminoanthracène, 2-nitrofluorène, azoture de sodium, 9-aminoacridine, méthyl-méthane-sulphonate selon les souches bactériennes) ont été réalisés avec et sans S9 mix. Un essai préliminaire de toxicité a été réalisé afin de déterminer la gamme de doses à utiliser. L'étude principale de mutagenèse a été réalisée avec la méthode de pré-incubation dans 2 essais indépendants avec 5 doses (jusqu'à 5 000 µg/boîte) et en triplicat. Les résultats des études montrent une absence d'activité mutagène du MEMO dans les 4 études effectuées sur différentes souches bactériennes.

- **Test de mutations géniques sur culture de cellules de mammifères**

L'étude du potentiel mutagène du MEMO a également été menée avec le test de mutation génique au locus HGPRT (hypoxanthine-guanine phosphoribosyl transferase) sur des cellules ovariennes de hamster chinois (cellules CHO) selon la ligne directrice de l'EPA (EPA, 1982b) et dans le respect des BPL. Un essai préliminaire de toxicité a été réalisé afin de déterminer la gamme de doses à utiliser. L'essai principal de mutagenèse a par la suite été effectué avec et sans activation métabolique avec 5 doses allant de 0,1 à 0,8 mg/mL (cultures en duplicat, 4 plaques/culture). Des témoins négatifs (méthanol) et positifs (diméthyl-nitrosamine et éthyl-méthane-sulfonate) ont également été ajoutés.

Le MEMO n'a montré aucune activité mutagène sur cellules CHO au locus HGPRT, aussi bien en présence qu'en absence d'activation métabolique, dans les conditions de l'essai.

- **Test d'aberrations chromosomiques sur culture de cellules de mammifères**

Ce test permet de rechercher si le MEMO présente une activité clastogène (aberrations structurales des chromosomes) et/ou aneugène (changement du nombre de chromosomes). Le test a été réalisé sur des cellules CHO selon la ligne directrice de l'EPA (EPA, 1982c) et dans le respect des BPL. Un essai préliminaire de toxicité (avec et sans S9) a permis de choisir les concentrations de MEMO à utiliser dans l'essai principal, à savoir 5 doses comprises entre 0,1 et 0,6 mg/mL. Des contrôles négatifs et positifs ont été inclus. Les cellules ont été recueillies à 2 temps différents : 8h et 12h après la fin de la période de traitement. Dans les conditions expérimentales de cette étude, le MEMO présente des effets mutagènes/génotoxiques à la fois en absence (uniquement après 8h de traitement à la plus forte concentration testée) et en présence d'activation métabolique (après 8h et 12h de traitement à plusieurs concentrations (et non en fonction de la température comme précisé dans le rapport du pétitionnaire)). Les aberrations chromosomiques observées sont majoritairement des cassures de chromatides. Bien que plus rares, des cassures de chromosomes, réarrangements et chromosomes dicentriques sont également présents.

- **Test d'échanges de chromatides-sœurs sur cellules de mammifères (test SCE)**

Le test d'échanges de chromatides-sœurs a été mis en œuvre afin de rechercher si le MEMO induit des aberrations chromosomiques sur cellules CHO. Ce test a été conduit selon la ligne directrice de l'EPA (EPA, 1982d) et dans le respect des BPL. Un essai préliminaire de toxicité a tout d'abord été réalisé afin de déterminer la gamme de doses à utiliser. L'essai principal a été réalisé aux doses allant de 0,1 à 0,6 mg/mL pour l'essai sans S9 et de 0,06 à 0,35 mg/mL pour l'essai avec S9 (cultures en duplicat). Des contrôles négatifs (méthanol) et positifs ont été ajoutés. Dans les conditions de cette expérience, le MEMO n'a présenté aucun effet génotoxique, avec et sans S9.

- **Test du micronoyau *in vivo* sur sang périphérique de rongeurs**

L'activité génotoxique *in vivo* du MEMO a été étudiée par le test du micronoyau sur érythrocytes du sang périphérique chez la souris. Le test n'est pas strictement conforme à la ligne directrice n°474 de l'OCDE (OCDE TG 474) mais a été effectué dans des conditions similaires assurant la fiabilité de l'étude. En revanche les principes des BPL de l'OCDE ont bien été respectés. L'essai a été réalisé par voie intrapéritonéale chez la souris Swiss Webster mâle et femelle (5 animaux/sexe/groupe). Des essais préalables de toxicité ont permis de déterminer que la dose maximale tolérée (DMT) de MEMO par voie intrapéritonéale chez la souris était de 5 000 mg/kg (ce qui est supérieure à la dose maximale de 2 000 mg/kg recommandée actuellement dans la ligne directrice 474 de l'OCDE). L'essai principal de génotoxicité a ainsi été réalisé aux doses correspondantes à 100, 80 et 50% de la DMT, soit 5 000, 4 000 et 2 500 mg/kg. Des témoins négatifs (huile de maïs) et positifs (tri-éthylène-mélatamine) ont été inclus. Les animaux ont été traités avec une injection unique de MEMO et 3 prélèvements sanguins ont été effectués 30, 48, et 72 heures après le traitement.

Concernant la toxicité, une diminution du rapport érythrocytes polychromatiques / érythrocytes normochromatiques (PCE/NCE) a été observée après 72 heures de traitement. Concernant la génotoxicité, aucune augmentation significative du nombre moyen d'érythrocytes polychromatiques micronuclés n'a été relevée.

En résumé, le MEMO n'a montré aucune activité génotoxique dans le test du micronoyau *in vivo* sur sang périphérique de rongeurs.

- **Caractérisation du danger des impuretés liées au MEMO**

Au vu des calculs du NET rappelés précédemment et au vu de l'avis du CSHPF du 09/12/1997, le dossier toxicologique doit comprendre au minimum :

- dans le cas où $0,5 \leq \text{NET} \leq 50 \mu\text{g}/\text{personne}/\text{jour}$:
 - un test de mutation génique sur bactéries
 - un test d'aberrations chromosomiques sur cellules de mammifères
- dans le cas où $50 \leq \text{NET} \leq 5\,000 \mu\text{g}/\text{personne}/\text{jour}$:
 - des données de bioaccumulation
 - un test de mutation génique sur bactéries
 - un test d'aberrations chromosomiques sur cellules de mammifères
 - une étude de toxicité subaiguë (90 jours) par voie orale

Au cours des demandes de compléments d'informations, le GT avait proposé au pétitionnaire d'effectuer en première intention un test d'Ames et de fournir des données QSAR issues de 2 modèles différents (expert et statistique) lorsque le $0,5 \leq \text{NET} \leq 50 \mu\text{g}/\text{personne}/\text{jour}$.

Les études de génotoxicité proposées par le rapporteur reposent uniquement sur des données QSAR. Pour cela, le pétitionnaire propose dans un premier temps de définir les 4 substances suivantes comme des analogues structuraux des impuretés :

- Le triméthoxy(propyl)silane
- Le 2-Propanoic acid, 2-méthyl-, tris(1-méthylethyl)silyl ester

- Le propyl 2,2,3-triméthyl-4-[(2-méthylprop-2-énoyl)oxy]butanoate
- Le triméthyladipic acid / Hexanedioic acid, triméthyl

Le GT regrette qu'aucune justification ne soit faite concernant le choix de ces substances. Bien que cette approche s'apparente à du Read-Across, il n'existe aucun réel argument proposant sa construction⁸. Par ailleurs, seules les 2 dernières substances disposent de données expérimentales issues de la littérature.

Par la suite, des analyses QSAR ont été réalisées avec 3 logiciels différents (ToolBox v 3.4.1.17, TEST v 4.2, VEGA v1.2.3). Le niveau de validation de ces modèles n'est ni connu, ni fourni (cf. Guidance Document on the Validation of (Quantitative) Structure-Activity Relationship (Q)SAR Models, OECD 2007).

Les logiciels TEST et VEGA montrent de nombreux résultats « Out AD » (en dehors du domaine d'applicabilité) signifiant qu'aucune réelle prédiction ne peut être faite. Cela est d'ailleurs confirmé avec le (3-Chloropropyl)triméthoxysilane pour lequel on dispose de données contradictoires entre les études expérimentales (test d'Ames positif) et les prédictions QSAR du logiciel TEST (« Mutagenicity negative »). Le GT regrette également qu'aucune synthèse des données des 3 logiciels QSAR ne soit proposée pour chacune des impuretés, ce qui rend l'interprétation difficile. Enfin, le pétitionnaire justifie l'absence de données expérimentales telles que demandées par le GT par le fait que « la majorité des impuretés n'est pas commercialisée ». Cette réponse est discutable. S'il est possible de synthétiser les impuretés et/ou de travailler sur des extraits de MEMO purifiés, des tests miniaturisés (micro-méthodes) de génotoxicité ne nécessitant que quelques mg de produit sont acceptés. Si les techniques analytiques ou de préparation de l'échantillon ne permettent pas d'obtenir les impuretés à un degré de pureté suffisant, le pétitionnaire aurait pu fournir en première intention des tests génotoxiques sur des mélanges d'impuretés.

- **Conclusions sur les données de génotoxicité**

En conclusion, l'ensemble des données de génotoxicité relatives au MEMO seul apparaissent comme pertinentes aux yeux du GT.

Cependant, les données de génotoxicité transmises par le pétitionnaire, relatives aux 9 impuretés en lien avec le MEMO, ne sont pas conformes aux demandes du GT. Concernant les données de génotoxicité, aucune donnée expérimentale (test d'Ames) n'est fournie alors que pour la quasi-totalité des impuretés identifiées, le NET est supérieur à 0,5 µg/personne/jour. Le pétitionnaire appuie un argumentaire exclusivement sur des considérations d'analyse par des systèmes QSAR. Celles-ci sont constituées de données hétérogènes, confuses ou manquantes, ce qui rend la lecture et l'interprétation difficiles. En l'état, le dossier fourni par le pétitionnaire n'est pas suffisant pour une évaluation pertinente du risque pour la santé des consommateurs.

3.2.1 Autres données toxicologiques⁹

Le pétitionnaire a fourni l'ensemble des données requises pour l'étude du potentiel génotoxique du MEMO. Cependant, au regard du calcul du NET déterminé pour chacune des impuretés, des

⁸ Documents guide de l'ECHA 2008, 2012, 2013 et de l'OCDE 2014

⁹ Obtenues de: "the Hazardous Substances Data Bank (HSDB) of the National Library of Medicine's TOXNET system et du dossier SIDS de l'OCDE de 2010 ».

données de génotoxicité ainsi que des données issues d'études de toxicité orale sur 90 jours auraient dû être fournies. Or, seules des données QSAR ont été proposées pour la caractérisation du danger de ces impuretés (voir paragraphe précédent). Les données suivantes rapportées par le pétitionnaire concernent uniquement le MEMO.

Une fiche de sécurité incomplète (Dynasytan MEMO, Evonik Industries ; 8 pages datées du 05/06/2012) pour le MEMO a été fournie par le pétitionnaire. Cependant, une recherche bibliographique a permis d'identifier un certain nombre de données toxicologiques concernant le MEMO⁹. Pour la plupart d'entre elles, la voie d'exposition est par inhalation, ce qui n'est pas pertinent avec l'évaluation d'une substance à laquelle le consommateur sera exposé par voie orale limitant ainsi le nombre d'études utilisables.

Les données de toxicité aiguë (4 études chez le rat) rapportent des valeurs de DL 50¹⁰ toutes supérieures à 2 000 mg/kg poids corporel (jusqu'à 23,5 g/kg poids corporel), ce qui indique une faible toxicité aiguë.

En ce qui concerne les études subaiguës, il n'existe que trois études par inhalation et une étude par voie dermique, toutes chez le rat. Aucun effet n'a été rapporté pour des expositions atteignant la plus forte dose réalisable au regard des caractéristiques physico-chimiques du MEMO. Aucune étude par voie orale n'a été trouvée.

Pour les études sub-chroniques par administrations répétées, seules des études par inhalation (7 chez le rat) et une par voie dermique chez le lapin, sont disponibles, aucun effet particulier n'a été rapporté.

En ce qui concerne un potentiel cancérigène, le MEMO est classé en catégorie 3 (agent inclassable quant à sa cancérogénicité) par le CIRC. Un suivi sur le long terme d'une cohorte de travailleurs n'a apporté aucun élément démontrant un potentiel cancérigène.

En ce qui concerne le pouvoir irritant, chez le lapin, 4 études ont démontré un pouvoir irritant faible ou modéré pour la peau, et 4 études ont conclu à des effets très faiblement à modérément irritant pour les yeux.

Deux études, l'une chez le cobaye et une autre sur 14 sujets humains n'ont pas rapporté de potentiel sensibilisant.

Une étude de fertilité chez le lapin exposé par inhalation n'a montré aucune modification histologique des organes reproducteurs.

Deux études de toxicité du développement et de tératogénèse chez le rat exposé par gavage sont disponibles. Les seuls effets toxiques observés (retard du développement des fœtus, augmentation d'incidence des malformations des tissus mous et du squelette) ont toujours été associés à des doses d'exposition très élevées provoquant une toxicité maternelle nette. Une dose sans effet adverse observable (DSENO) de 522 mg/kg poids corporel /jour a été identifiée par les auteurs aussi bien pour la toxicité maternelle que pour le développement.

3.3 Conclusion du GT ESPA

En l'absence des données requises pour l'évaluation du risque, notamment les données d'expositions et de caractérisation du danger, le GT ESPA n'est pas en mesure de se prononcer

¹⁰ La DL50 définit la dose nécessaire d'une substance pour tuer 50% d'un groupe d'animaux testés

sur l'innocuité du 3-(méthacryloyloxy)-propyl-triméthoxysilane (MEMO) utilisé dans les matériaux et objets en silicone destinés au contact alimentaire. Il n'est donc pas possible de donner un avis sur l'éventuel ajout du 3-(méthacryloyloxy)-propyl-triméthoxysilane (MEMO) dans la liste des substances autorisées de l'article 2 de l'arrêté français du 25 novembre 1992.

4 CONCLUSIONS ET RECOMMANDATIONS DE L'AGENCE

L'Agence nationale de sécurité sanitaire de l'alimentation, de l'environnement et du travail adopte les conclusions du GT ESPA.

Dr Roger GENET

MOTS-CLES

MEMO, Silicone, MCDA

KEYWORDS

MEMO, Silicone, FCM

BIBLIOGRAPHIE

Arrêté du 25/11/1992.

Arrêté du 13/11/1986.

Avis du Conseil supérieur d'hygiène publique de France relatifs aux matériaux au contact des denrées alimentaires. Séances du 14 octobre et du 9 décembre 1997 (Demandes d'autorisation d'emploi).

Avis du CSHPF du 9/12/1997.

ECHA Guidance on information requirements and chemical safety assessment - Chapter R.6: QSARs and grouping of chemicals. ECHA, 2008.

Grouping of substances and read-across approach, Part 1: Introductory note. ECHA, 2013.

Guidance on Grouping of chemicals. OECD 2014.

Instruction du 27/11/1986.

Note for guidance for Food Contact Materials de l'EFSA du 30/07/2008.

Practical Guide 6. How to report read-across and categories. ECHA, 2012.

Scientific Committee; Scientific Opinion on genotoxicity testing strategies applicable to food and feed safety assessment. EFSA Journal 2011;9(9):2379.