

anses

agence nationale de sécurité sanitaire
alimentation, environnement, travail



Connaître, évaluer, protéger

Elaboration de VTR chronique par voie respiratoire pour le décaméthylcyclo- pentasiloxane

Avis de l'Anses
Rapport d'expertise collective

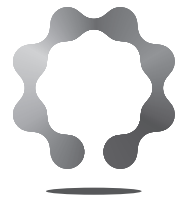
Août 2017

Édition scientifique



anses

agence nationale de sécurité sanitaire
alimentation, environnement, travail



Connaître, évaluer, protéger

Elaboration de VTR chronique par voie respiratoire pour le décaméthylcyclo- pentasiloxane

Avis de l'Anses

Rapport d'expertise collective

Août 2017

Édition scientifique

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 l'élaboration de VTR par voie respiratoire pour le
décaméthylcyclopentasiloxane (D5) (n° CAS 541-02-6)**

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 3 février 2012 par la Direction générale du travail (DGT) pour produire des valeurs limites d'exposition professionnelle (VLEP). Parmi les substances inscrites au programme de travail de 2012, figurait le décaméthylcyclopentasiloxane (D5).

1. CONTEXTE ET OBJET DE LA SAISINE

Une expertise a été demandée à l'Anses par la DGT le 3 février 2012 en vue de produire une VLEP pour le décaméthylcyclopentasiloxane (D5). Pour ce faire, un profil toxicologique a été réalisé. Le D5 possédant de très larges applications (matière première cosmétique, biocides, substitut du perchloroéthylène pour le nettoyage à sec dans les pressings...) l'Anses a souhaité valoriser le travail réalisé en proposant une VTR par inhalation pour ce composé.

Une valeur toxicologique de référence, ou VTR, est un indice toxicologique qui permet de qualifier ou de quantifier un risque pour la santé humaine. Elle établit le lien entre une exposition à une substance toxique et l'occurrence d'un effet sanitaire indésirable. Les VTR sont spécifiques d'une durée d'exposition (aiguë, subchronique ou chronique) et d'une voie d'exposition (orale ou respiratoire). La construction des VTR diffère en fonction des connaissances ou des hypothèses formulées sur les mécanismes d'action des substances. Actuellement, l'hypothèse par défaut est de considérer une relation monotone entre l'exposition, ou la dose, et l'effet, ou la réponse. En l'état actuel des connaissances et par défaut, on considère généralement que, pour les effets non cancérogènes, la toxicité ne s'exprime qu'au-delà d'un seuil de dose (Anses, 2015).

En pratique, la construction de la VTR à seuil comprend les quatre étapes suivantes :

- choix de l'effet critique ;

- choix d'une étude de bonne qualité scientifique permettant généralement d'établir une relation dose – réponse ;
- choix ou construction d'une dose critique à partir des doses expérimentales et/ou des données épidémiologiques ;
- Ajustements et application de facteurs d'incertitude à la dose critique pour tenir compte des incertitudes.

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 relève du domaine de compétences du comité d'experts spécialisé (CES) «Caractérisation des dangers des substances et valeurs toxicologiques de référence » (appelé ci-après CES « Substances »). Les travaux ont été présentés au CES tant sur les aspects méthodologiques que scientifiques entre juin 2014 et novembre 2015. Ils ont été adoptés par le CES « Substances » réuni le 12 novembre 2015.

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 CES

La majorité des données permettant d'établir le profil toxicologique du D5 provient d'études conduites chez l'animal.

Plusieurs effets sont observés dans les nombreuses études de toxicité réalisées sur le D5. Les effets critiques suivants ont été analysés et discutés :

- **Toxicité hépatique** : l'effet hépatique est l'effet le plus fréquemment observé dans les études réalisées sur le D5. En effet, dans toutes les études de toxicité répétée (par voie orale et par inhalation), est observée, au minimum, une augmentation du poids du foie. Cette augmentation du poids du foie (reflet de la toxicité hépatique d'un composé) est associée à un doublement des γ -GT chez les femelles dans l'étude subchronique de Burns-Naas *et al.* (1998b). Cependant, le CES considère que le manque de reproductibilité de cette augmentation de γ -GT (dont le niveau basal chez le rat est normalement très faible) et le fait que cet effet ne soit pas associé à d'autres modifications de paramètres biochimiques ou histopathologiques dans cette même étude sont en faveur d'un effet adaptatif du foie, et non d'une toxicité.
- **Minéralisation vasculaire pulmonaire** : cet effet est observé dans l'étude 2 générations (Siddiqui *et al.*, 2007), mais n'est pas détaillé par les auteurs. Il est probable que ce qui est désigné comme étant une minéralisation soit en fait une calcification. L'information parcellaire sur cet effet tel que décrit dans l'étude ne permet pas de le retenir comme effet critique de la toxicité du D5.
- **Histiocytose alvéolaire** : l'histiocytose alvéolaire est une infiltration du tissu pulmonaire par des cellules de la lignée monocytes-macrophages. Cette histiocytose diffère d'une histiocytose langerhansienne, qui est une pathologie multisystémique liée à l'accumulation

de cellules de Langerhans dans les tissus, qui peut être imputable au tabac, et retrouvée chez de jeunes sujets humains. Cette histiocytose alvéolaire est observée également chez l'Homme suite à une exposition à la substance active herbicide paraquat, aux produits bitumineux ainsi qu'aux huiles de paraffine. L'histiocytose a également été retrouvée dans différentes études chez l'animal : selon Élies (thèse, 2009), elle est rapportée chez les témoins dans des études de cancérogénèse dans lesquelles la souris C57BL/6 est le modèle utilisé. Selon Boorman (1990) et Mohr (1992) l'histiocytose alvéolaire serait une exacerbation des lésions retrouvées chez le rat âgé due à la présence de matériel dans les poumons. L'information parcellaire sur cet effet tel que décrit dans l'étude de Siddiqui *et al.*, 2007 ne permet pas de le retenir comme effet critique de la toxicité du D5.

- **Cancérogénicité** : des adénocarcinomes de l'endomètre utérin sont observés dans une étude de toxicité chronique au D5 (Jean *et al.*, 2015). Malgré la significativité statistique à la plus haute dose, aucune relation dose-réponse n'apparaît, ce qui ne permet pas d'affirmer l'existence d'une relation causale liée à l'exposition au D5. De plus le mécanisme d'action n'est pas complètement élucidé. Bien qu'il ne soit pas exclu que l'apparition des adénocarcinomes de l'endomètre soit liée au vieillissement des rats, on ne peut toutefois pas affirmer que cet effet n'est pas transposable à l'Homme. Un effet génotoxique du D5 peut cependant être écarté, les différents tests réalisés, *in vitro* ou *in vivo*, s'étant tous révélés négatifs.
- **Inflammation pulmonaire** : l'inflammation pulmonaire est également un effet constant rapporté dans les études par toxicité répétée disponibles sur le D5. Malgré la prépondérance de cet effet, les relations dose-réponse sont difficiles à établir dans les études disponibles. Les effets inflammatoires sont en effet principalement observés à de fortes doses, pour lesquelles les animaux ne seraient plus exposés seulement à des vapeurs, mais également à des aérosols. Il serait donc possible que cette inflammation soit la réaction physiologique de l'organisme à l'entrée d'un corps étranger, et ne soit donc pas spécifique au D5. Cependant, dans l'étude par exposition subchronique de Burns-Naas *et al.* (1998b), une augmentation de ce phénomène inflammatoire est observée à des concentrations auxquelles le D5 est encore sous forme vapeur. De plus, cet effet n'est pas réversible après un mois.

Elaboration d'une VTR chronique par inhalation

Analyse des VTR existantes

Aucune VTR n'existe à ce jour pour le D5.

Choix de l'effet critique

De l'analyse des nombreuses études sur le D5, il ressort que tous les effets évalués sont discutables et aucun ne s'impose clairement comme un effet critique. Néanmoins, la large utilisation de ce composé dans de nombreux produits (cosmétiques, biocides...) justifie l'établissement d'une VTR. Les experts du CES ont donc choisi de retenir, par défaut, les effets inflammatoires pulmonaires comme effet critique pour la construction de la VTR. De plus, une VTR sur ces effets inflammatoires protégerait de l'apparition des adénocarcinomes observée dans l'étude par exposition chronique.

Choix de l'étude clé

L'inflammation pulmonaire est observée dans de nombreuses études. L'étude de Burns-Naas *et al.* (1998b) est la seule pour laquelle une relation dose-réponse semble se dessiner, et une *Benchmark Concentration* (BMC) a pu être construite. Cette étude est une étude 13 semaines réalisée sur des rats Fischer 344, aux doses suivantes : 0 ; 28,6 ; 49,2 ; 87,7 et 233 ppm (0 ; 432 ; 743 ; 1324 ; 3518 mg.m⁻³)¹. De plus, cette étude suit la ligne directrice OCDE 413. Cependant, à la concentration la plus élevée, le CES relève que le D5 n'est plus uniquement sous forme de vapeurs, mais également d'aérosol.

Choix de la dose critique

Les données expérimentales établies sur l'inflammation pulmonaire ont pu être modélisées à l'aide des modèles mathématiques utilisés par le logiciel Proast (*Proast software version 38*) élaboré par le RIVM² afin d'établir une BMC.

L'objectif de la démarche est d'estimer la concentration correspondant à un niveau de réponse défini ou à un pourcentage défini de réponse supplémentaire par rapport au témoin. Ce niveau ou ce pourcentage est appelé BMR pour *Benchmark Response level*.

Lors de la détermination de la BMCL (limite inférieure de l'intervalle de confiance de la BMC), plusieurs modèles mathématiques ont été testés. La méthode d'ajustement du modèle aux données est le maximum de vraisemblance. Le niveau de confiance associé à la BMCL est de 95% (Anses, 2015).

Dans le cas du D5, le modèle s'ajustant le mieux aux données expérimentales est le modèle Gamma.

La dose critique provient de la construction d'une BMC. Les paramètres utilisés sont un excès de risque de 10%. Les valeurs retenues sont les suivantes :

- BMC_{10%} : 82,3 ppm
- BMC_{10%L_{95%}} : 59,1 ppm

Ajustement dosimétrique

L'objectif est de réduire la valeur de l'incertitude sur la variabilité inter-espèce afin de déterminer une concentration équivalente humaine (HEC). Pour la voie respiratoire, l'U.S. EPA³ a développé différents ajustements dosimétriques qui sont réalisés en fonction des propriétés physicochimiques de la substance inhalée (particules ou gaz, fortement solubles ou peu solubles dans l'eau) et du site où sont observés les effets critiques (respiratoires ou extra-respiratoires) conduisant à différentes équations (US EPA, 1994).

D'après les recommandations de l'US EPA (1994), le D5 doit être considéré comme un gaz de catégorie 3 (toxicité systémique). Ainsi, l'ajustement dosimétrique appliqué par défaut pour un gaz de catégorie 3 est le suivant :

$$BMC_{10\%L_{95\%}}_{HEC} = BMC_{10\%L_{95\%}}_{animal} \times (Hb/g)_{rat} / (Hb/g)_{Homme}$$

Avec (Hb/g) : coefficient de partition sang/air du D5

HEC : concentration équivalente humaine

¹ 1 ppm = 15,1 mg.m⁻³

² RIVM : Rijksinstituut voor Volksgezondheid en Milieu

³ U.S. EPA : United States Environmental Protection Agency

Selon les données disponibles dans la littérature, les coefficients de partition sang/air du D5 sont de 0,55 chez le rat et de 0,5 chez l'Homme (M. Andersen, communication personnelle, en cours de publication). Cependant le ratio $(\text{Hb/g})_{\text{rat}} / (\text{Hb/g})_{\text{Homme}}$ étant supérieur à 1 (1,1), l'US EPA propose de retenir la valeur par défaut de 1 qui est plus protectrice.

$$\text{BMC}_{10\%L_{95\% \text{ HEC}}} = 59,1 \text{ ppm}$$

Ajustement temporel

Les animaux ont été exposés 6h/j, 5j/semaine. Pour tenir compte de la discontinuité de l'exposition, un ajustement temporel a été effectué :

$$\text{BMC}_{10\%L_{95\% \text{ HED ADJ.}}} = \text{BMC}_{10\%L_{95\% \text{ HED}}} \times (6/24) \times (5/7) = 10,55 \text{ ppm}$$

Choix des facteurs d'incertitude

Le calcul de la VTR à partir de la $\text{BMC}_{10\%L_{95\% \text{ HED ADJ.}}}$ a été effectué à l'aide des facteurs d'incertitude suivants (Anses, 2015) :

- Variabilité inter-espèces (UF_A) : 2,5

L'ajustement dosimétrique réalisé a permis de calculer une concentration équivalente humaine, à l'aide de l'équation précédente. Pour tenir compte de la variabilité toxicodynamique et d'incertitudes résiduelles, un facteur d'incertitude supplémentaire a été fixé à 2,5.

- Variabilité interindividuelle (UF_H) : 10

Aucune donnée scientifique permettant de réduire la valeur par défaut n'étant disponible, la valeur de 10 est utilisée.

- Transposition subchronique à chronique (UF_S) : 1

Un UF_S a été envisagé, l'étude clé retenue pour la construction de la VTR étant une étude réalisée en exposition subchronique. Cependant, par consensus d'experts, pour ce type d'effet, il est estimé qu'une étude par exposition subchronique de 90 jours est adéquate pour la construction d'une VTR chronique sans ajout de facteur d'incertitude supplémentaire.

- Utilisation d'une BMDL, d'un LOAEL/C ou d'un NOAEL/C ($\text{UF}_{B/L}$) : 1

La construction de la VTR est basée ici sur une BMCL, ce facteur ne s'applique pas.

- Insuffisance des données (UF_D) : 1

Les données toxicologiques sur le D5 sont jugées suffisantes pour la construction de la VTR.

Un facteur d'incertitude global de **25** est donc utilisé pour la construction de la VTR du D5.

Calcul de la VTR

$$\text{VTR} = 0,422 \text{ ppm soit } 6,4 \text{ mg.m}^{-3}$$

Niveau de confiance :

Un niveau de confiance global a été attribué à cette VTR chronique par voie respiratoire en se basant sur les critères suivants :

- Niveau de confiance dans la nature et la qualité des données :

Fort : les données toxicologiques sont suffisantes pour évaluer ce composé.

- Niveau de confiance dans le choix de l'effet critique et le mode d'action :

Faible : c'est un effet retrouvé dans de nombreuses études, mais pour lequel une relation dose réponse est difficile à mettre en évidence. De plus, c'est un effet retrouvé majoritairement lors d'une exposition à des aérosols.

- Niveau de confiance dans choix de l'étude clé :

Moyen : il s'agit d'une étude bien détaillée qui suit la ligne directrice OCDE 413. Cependant, la concentration la plus élevée est constituée de 40% d'aérosol, et plus uniquement de vapeurs.

- Niveau de confiance dans le choix de la dose critique :

Faible : même si la construction d'une BMC a été possible, la qualité de la relation dose réponse est faible. De plus, concernant les facteurs d'incertitudes et d'ajustements, aucune donnée n'a pu permettre de se départir des valeurs par défaut.

Le niveau de confiance global pour cette VTR est donc **faible**.

Le rapport a été validé à la majorité des experts présents (14 pour sur 18 experts présents). Quatre experts ont choisi de s'abstenir au regard des données disponibles pour caractériser la dangerosité de la substance, de l'effet critique retenu, à savoir l'inflammation pulmonaire chez le rongeur, et de l'absence de dose/réponse pour cet effet. Néanmoins, ils ne remettent pas en cause l'utilité de construire une VTR afin de pouvoir gérer les risques potentiels du D5 au vu des nombreuses utilisations de cette substance en population générale.

4. CONCLUSIONS ET RECOMMANDATIONS DE L'AGENCE

L'Agence nationale de sécurité sanitaire de l'alimentation, de l'environnement et du travail endosse les conclusions et recommandations du CES « Substances » qui portent sur l'élaboration de valeurs toxicologiques de référence par inhalation pour le D5.

| Effet critique Etude clé | Concentration critique | UF | VTR |
|--|--|---|--|
| Inflammation pulmonaire Burns-Naas <i>et al.</i> , 1998b : étude 13 semaines chez des rats F344 | BMC _{10%} L _{95%} = 59,1 ppm <u>Ajustement dosimétrique</u> BMC _{10%} L _{95%} HEC = 59,1 ppm <u>Ajustement temporel</u> BMC _{10%} L _{95%} HED ADJ. = 10,55 ppm | 25 UF _A : 2,5 UF _H : 10 | VTR = 6,4 mg.m⁻³ soit 0,422 ppm Niveau de confiance Faible |

Dr Roger GENET

MOTS-CLÉS

Décaméthylcyclopentasiloxane, D5, valeur toxicologique de référence, inhalation

BIBLIOGRAPHIE

Agence française de normalisation (AFNOR), Qualité en expertise - Prescriptions générales de compétence pour une expertise. Norme française NF X 50-110, Mai 2003.

Agence nationale de sécurité sanitaire de l'alimentation, de l'environnement et du travail (Anses), (2015) Valeurs toxicologiques de référence (VTR), Guide d'élaboration de VTR.

Boorman G.A., Eustis S.L., Elwell M.R., Montgomery Jr. C.A., Mackenzie W.F. (1990). Pathology of the Fischer rat. Academic Press, San Diego p. 346–490.

Bums-Naas LA, Mast RW, Meeks RG, Mann PC, and Thevenazt P (1998b) Inhalation Toxicology of Decamethylcyclopentasiloxane (D5) Following a 3-Month Nose-Only Exposure in Fischer 344 Rats. Toxicological Sciences 43, 230-240

Elies L. (2009) Lésions histopathologiques spontanées observées chez la souris C57BL/6 au cours des études de cancérogénèse

Jean, P.A., Plotzke, K.P., Scialli, A.R., (2015) Chronic Toxicity and Oncogenicity of Decamethylcyclopentasiloxane in the Fischer 344 Rat, Regulatory Toxicology and Pharmacology

Mohr U., Dungworth D.L., Capen C.C. (1992). Pathology of the aging rat. ILSI Press, Washington, DC p. 147–50.

Reddy, M.B., Dobrev, I.D., Mcnett, D.A., Tobin, J.M., Utell, M.J., Morrow, P.E., Domoradzki, J.Y., Plotzke, K.P., Andersen, M.E. (2008) Inhalation dosimetry modeling with decamethylcyclopentasiloxane in rats and humans. Toxicol. Sci. 105(2), 275-285

Siddiqui WH, Stump DG, Reynolds VL, Plotzke KP, Holson JF, Meeks RG (2007) A two-generation reproductive toxicity study of decamethylcyclopentasiloxane (D5) in rats exposed by whole-body vapor inhalation. Reproductive Toxicology 23, 216–225

US Environmental Protection Agency (U.S. EPA) (1994) Methods for derivation of inhalation reference and concentration and application of inhalation dosimetry. Environmental Criteria and Assessment Office. Office of Health and Environmental Assessment. EPA/600/8-90/066F. (US EPA, Washington DC.) 389p.

U.S. EPA (2002) Hepatocellular hypertrophy. HED guidance document #G2002.01. Technical Report.

Valeurs toxicologiques de référence (VTR)

**Elaboration de VTR chronique par voie respiratoire pour le
Décaméthylcyclopentasiloxane
(CAS n°541-02-6)**

Mission permanente « Valeurs toxicologiques de référence »

**Saisine « 2015-SA-0204 »
Saisine liée « 2012-SA-0077 »**

RAPPORT d'expertise collective

**Comité d'experts spécialisé
« Caractérisation des dangers des substances et valeurs toxicologiques de
référence »**

Novembre 2015

Mots clés

Valeur toxicologique de référence, VTR, Décaméthylcyclopentasiloxane, D5

Présentation des intervenants

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

COMITÉ D'EXPERTS SPÉCIALISÉ

Les travaux, objets du présent rapport ont été suivis et adoptés par le CES suivant :

- CES « Caractérisation des dangers des substances et valeurs toxicologiques de référence » – 12 Novembre 2015

Président

M. Michel GUERBET – Professeur de toxicologie à l'UFR médecine pharmacie de Rouen - Pharmacien toxicologue

Vice-président

M. Dominique LAFON – Médecin toxicologue, pilote de la thématique reproduction et travail à l'INRS – Médecine du travail, toxicologie, reprotoxicité

Membres

M. Marc BARIL - Professeur associé à l'Université de Montréal – Chimiste toxicologue, VLEP

M. Sylvain BILLET – Enseignant chercheur / maître de conférence en toxicologie à l'Université du Littoral Côte d'Opale – Toxicologie respiratoire, nanomatériaux

Mme Michèle BISSON – Responsable d'étude à l'INERIS – Pharmacien toxicologue, toxicologie générale - VTR

Mme Anne CHEVALIER – Epidémiologiste retraitée de l'Institut de Veille Sanitaire

M. François CLINARD – Epidémiologiste à l'Institut de Veille Sanitaire – Pharmacien toxicologue, épidémiologie, évaluation des risques sanitaires

Mme Fatiha EL-GHISSASSI – Scientifique, Section des Monographies de IARC (IMO) Centre International de Recherche sur le Cancer - Docteur es science en biochimie spécialiste en cancérogénèse et génotoxicité

Mme Mounia EL-YAMANI – Responsable d'unité à l'Institut de Veille sanitaire – Docteur es science en biochimie, toxicologie, VLEP

M. Claude EMOND – Professeur adjoint de clinique à l'Université de Montréal – Toxicologie, modèle PBPK, toxicocinétique, nanotoxicologie, perturbateurs endocriniens

M. Guillaume GARCON – Professeur de toxicologie à l'Université de Lille 2 – Toxicologie générale, cancérologie, modèles expérimentaux, toxicologie respiratoire, pollution atmosphérique

M. Ludovic LE HEGARAT – Chef d'unité adjoint Toxicologie des contaminants - Anses – Laboratoire de Fougères- Toxicologie, génotoxicité, nanomatériaux

M. Karim MAGHNI – Professeur sous octroi agrégé à l'Université de Montréal – Toxicologie, immunologie, asthme, allergies, nanomatériaux

Mme Véronique MALARD – Ingénieur chercheur en toxicologie au Commissariat à l'énergie atomique et aux énergies alternatives, Centre de Marcoule. – Toxicologie « *in vitro* », biologie cellulaire, nanotoxicologie, protéomique.

M. Fabrice MICHIELS – Médecin du travail / toxicologue au Service de santé des armées

M. Jean-Paul PAYAN – Chef du laboratoire Pénétration Cutanée, Cinétique et Métabolisme à l'INRS, Nancy – Pharmacien toxicologue, toxicocinétique

M. Henri SCHROEDER – Enseignant chercheur à l'URAFPA, INRA USC 340, Faculté des Sciences et Technologies, Université de Lorraine - Pharmacien biologiste, neurotoxicité

M. Alain SIMMONARD – Chef de département à l'INRS, Nancy - Pharmacien toxicologue, toxicologie générale et reprotoxicité, anatomopathologie

M. Olivier SORG – Chef de groupe de recherche à l'Université de Genève – Docteur es science en biochimie, toxicologie expérimentale, dermatotoxicologie

Mme Lydie SPARFEL – Professeur à l'Université de Rennes 1 / IRSET 'Institut de Recherche en Santé, Environnement et Travail' UMR INSERM 1085– Pharmacien Toxicologue, immunotoxicologie, toxicogénomique, cancérologie, biologie cellulaire et moléculaire

M. Jérôme THIREAU – Chargé de recherche au CNRS – Docteur es science, physiologie animale, biologie cellulaire, cardiotoxicité

RAPPORTEURS

Mme Mounia EL-YAMANI – Responsable d'unité à l'Institut de Veille sanitaire – Docteur es science en biochimie, toxicologie, VLEP

M. Alain SIMMONARD – Chef de département à l'INRS, Nancy - Pharmacien toxicologue, toxicologie générale et reprotoxicité, anatomopathologie

PARTICIPATION ANSES

Coordination scientifique et contribution scientifique

Mme Pauline GUILLOU – Chargée de projets scientifiques – Anses

Secrétariat administratif

Mme Séverine BOIX-PETRE – Anses

SOMMAIRE

| | |
|--|-----------|
| Présentation des intervenants | 3 |
| Sigles et abréviations | 8 |
| Liste des tableaux..... | 10 |
| Liste des figures | 10 |
| 1 Contexte, objet et modalités de traitement de la saisine..... | 12 |
| 1.1 Contexte..... | 12 |
| 1.2 Objet de la saisine..... | 12 |
| 1.3 Modalités de traitement : moyens mis en œuvre et organisation..... | 13 |
| 1.4 Prévention des risques de conflit d'intérêt | 13 |
| 2 Informations générales..... | 14 |
| 2.1 Identification de la substance | 14 |
| 2.2 Propriétés physico-chimiques | 15 |
| 3 Synthèse des données toxicologiques | 16 |
| 3.1 Toxicocinétique..... | 16 |
| 3.1.1 Absorption | 16 |
| 3.1.1.1 Inhalation..... | 16 |
| 3.1.1.2 Ingestion..... | 17 |
| 3.1.1.3 Contact cutané | 18 |
| 3.1.2 Distribution | 20 |
| 3.1.2.1 Inhalation..... | 20 |
| 3.1.2.2 Ingestion..... | 21 |
| 3.1.2.3 Contact cutané | 21 |
| 3.1.3 Métabolisme..... | 21 |
| 3.1.4 Excrétion | 22 |
| 3.1.4.1 Inhalation..... | 22 |
| 3.1.4.2 Ingestion..... | 24 |
| 3.1.4.3 Contact cutané | 24 |
| 3.1.5 Modèle PBPK..... | 24 |
| 3.2 Toxicité aiguë | 26 |
| 3.2.1 Données chez l'Homme..... | 26 |
| 3.2.2 Données chez l'animal..... | 26 |
| 3.2.2.1 Exposition par voie orale | 26 |
| 3.2.2.2 Exposition par inhalation | 27 |

| | | |
|------------|--|-----------|
| 3.2.2.3 | Exposition par contact cutané | 27 |
| 3.3 | Irritation | 28 |
| 3.3.1 | Données chez l'Homme..... | 28 |
| 3.3.2 | Données chez l'animal..... | 28 |
| 3.3.2.1 | Irritation respiratoire | 28 |
| 3.3.2.2 | Irritation cutanée..... | 28 |
| 3.3.2.3 | Irritation oculaire..... | 29 |
| 3.4 | Sensibilisation | 30 |
| 3.4.1 | Données chez l'Homme..... | 30 |
| 3.4.2 | Données chez l'animal..... | 30 |
| 3.5 | Toxicité subchronique et chronique | 31 |
| 3.5.1 | Données chez l'Homme..... | 36 |
| 3.5.2 | Données chez l'animal..... | 36 |
| 3.5.2.1 | Effets respiratoires | 36 |
| 3.5.2.2 | Effets hématologiques/immunologiques | 39 |
| 3.5.2.3 | Effets hépatiques..... | 41 |
| 3.6 | Génotoxicité | 42 |
| 3.7 | Cancérogénicité | 43 |
| 3.7.1 | Données chez l'Homme..... | 43 |
| 3.7.2 | Données chez l'animal..... | 43 |
| 3.8 | Effets sur la reproduction et le développement..... | 45 |
| 3.8.1 | Données chez l'Homme..... | 45 |
| 3.8.2 | Données chez l'animal..... | 45 |
| 3.9 | Mécanismes d'action | 47 |
| 3.9.1 | Effets hépatiques | 47 |
| 3.9.2 | Cancérogénicité | 48 |
| 4 | Recueil des valeurs toxicologiques de référence | 52 |
| 5 | Proposition de VTR chronique par inhalation..... | 53 |
| 5.1 | Choix de l'effet critique..... | 53 |
| 5.2 | Analyse des VTR existantes..... | 54 |
| 5.3 | Construction de VTR..... | 54 |
| 5.3.1 | Choix de l'étude clé..... | 54 |
| 5.3.2 | Choix de la dose critique..... | 54 |
| 5.3.3 | Ajustements | 55 |
| 5.3.4 | Choix des facteurs d'incertitude..... | 56 |
| 5.3.5 | Proposition de VTR chronique par inhalation | 57 |

| | |
|---|-----------|
| 5.3.6 Niveau de confiance | 57 |
| 6 Conclusions du CES..... | 58 |
| 7 Bibliographie..... | 60 |
| ANNEXES | 63 |
| Annexe 1 : Liens mentionnés dans les déclarations publiques d'intérêts des experts..... | 64 |



Sigles et abréviations

| | |
|------------------|---|
| Anses | Agence nationale de sécurité sanitaire, alimentation, environnement, travail |
| ATSDR | Agency for Toxic Substances and Disease Registry |
| ALAT | Alanine Aminotransférase |
| ASAT | Aspartate aminotransférase |
| BMC | Benchmark Concentration |
| BMCL | Limite inférieure de l'intervalle de confiance de la benchmark concentration |
| BMR | Benchmark Response |
| BPL | Bonnes Pratiques de Laboratoire |
| CAS | Chemical Abstracts Service |
| CES | Comité d'Experts Spécialisés |
| CL ₅₀ | Concentration létale 50 |
| CCMH | Concentration corpusculaire moyenne en hémoglobine |
| CYP | Cytochrome P |
| DL ₅₀ | Dose létale 50 |
| ECHA | European Chemicals Agency (= Agence européenne des produits chimiques) |
| EINECS | European INventory of Existing Commercial chemical Substances |
| ER | Récepteur aux oestrogènes |
| EROD | 7-éthoxyrésorufine O-dééthylase microsomale |
| ERS | Evaluation de Risques Sanitaires |
| γ-GT | Gamma-Glutamyltransférase |
| GD | Gestation Day (= jour de gestation) |
| GT | Groupe de Travail |
| HEC | Concentration équivalente humaine (= Human Equivalent Concentration) |
| HRIPT | Human Repeated Insult Patch Test |
| LH | Luteinizing Hormone (= Hormone Lutéinisante) |
| LOAEL | Lowest Observed Adverse Effect Level (= Dose minimale entraînant un effet néfaste observé) |
| LSC | Liquid Scintillation Counting (= comptage par scintillation liquide) |
| MRL | Minimal Risk Level |
| NADPH | Nicotinamide Adénine Dinucléotide Phosphate |
| NOAEL | No Observed Adverse Effect Level (= Dose maximale n'entraînant pas d'effet néfaste observé) |
| NTP | National Toxicology Program |
| OCDE | Organisation de Coopération et de Développement Économiques |
| OEHHA | Office of Environmental Health Hazard Assessment (Californie - États-Unis) |
| PND | Post Natal Day (= jour post-natal) |
| PR | Récepteur à la progestérone |
| PROD | 7-pentoxyrésorufine O-dépentylase microsomale |

| | |
|--------------------|--|
| RfC | Reference Concentration |
| SCCS | Scientific Committee on Consumer Safety (= Comité Scientifique pour la Sécurité des Consommateurs) |
| SD | Standard Deviation |
| TEAH | Hydroxyde de Tetraéthylamonium |
| UF | Uncertainty Factor (= Facteur d'incertitude) |
| UF _A | Facteur d'incertitude inter-espèces |
| UF _D | Facteur d'incertitude au manque de données |
| UF _H | Facteur d'incertitude interindividuel |
| UF _{H-TK} | Composante toxicocinétique du facteur d'incertitude interindividuel |
| UF _{H-TD} | Composante toxicodynamique du facteur d'incertitude interindividuel |
| UF _L | Facteur d'incertitude lié à l'utilisation d'un LOAEL ou d'une BMD |
| UF _S | Facteur d'incertitude lié à la transposition subchronique à chronique |
| US EPA | United States Environmental Protection Agency (États-Unis) |
| VGM | Volume globulaire moyen |
| VLEP | Valeur Limite d'Exposition Professionnelle |
| VTR | Valeur Toxicologique de Référence |

Liste des tableaux

| | |
|--|----|
| Tableau 1 : Identification de la substance | 14 |
| Tableau 2 : Propriétés physicochimiques | 15 |
| Tableau 3 : Données respiratoires du D5 | 17 |
| Tableau 4 : Pourcentages moyens de la charge corporelle de D5 dans les échantillons chez les mâles et les femelles à 168 heures après exposition au D5 (ECHA, 2015 ; SCCS, 2015) | 23 |
| Tableau 5 : Etudes de toxicité aiguë par voie orale | 26 |
| Tableau 6 : Etudes de toxicité aiguë par inhalation | 27 |
| Tableau 7 : Etudes de toxicité aiguë par contact cutané | 27 |
| Tableau 8 : Etudes d'irritation cutanée | 28 |
| Tableau 9 : Etudes d'irritation oculaire | 29 |
| Tableau 10 : Etudes de sensibilisation cutanée | 30 |
| Tableau 11 : Résumé des études de toxicité par exposition répétée | 31 |
| Tableau 12 : Observations histopathologiques | 38 |
| Tableau 13 : Résumé des études de génotoxicité <i>in vitro</i> | 42 |
| Tableau 14 : Résumé des études de génotoxicité <i>in vivo</i> | 43 |
| Tableau 15 : Incidence des adénocarcinomes de l'endomètre utérin | 44 |
| Tableau 16 : Comparaison de l'incidence d'adénocarcinomes utérin dans l'étude de cancérogénicité avec les incidences retrouvées chez les témoins historiques | 44 |
| Tableau 17 : Résumé des études sur la reproduction | 45 |
| Tableau 18 : Activités des enzymes PROD et EROD | 47 |
| Tableau 19 : Effets d'une exposition au D5 sur le niveau de prolactine sérique chez des rates prétraitées à la réserpine | 49 |
| Tableau 20 : Effet du sulpiride sur le niveau de prolactine sérique diminué par du D5 chez des rates prétraitées à la réserpine | 49 |
| Tableau 21 : Résumé des effets du D5 sur les niveaux de prolactine circulante de rates | 50 |
| Tableau 22 : Niveaux de prolactine circulante avant et après exposition de rates par inhalation à 2416 mg.m ⁻³ de D5 | 50 |
| Tableau 23 : VTR chronique par voie respiratoire pour le D5 | 58 |

Liste des figures

| | |
|--|----|
| Figure 1 : Schéma métabolique du D5 envisagé chez les rats Fischer 344 | 22 |
|--|----|

| | |
|--|----|
| Figure 2 : Modèle PBPK harmonisé décrivant les concentrations tissulaires du D5, la production et la distribution d'une réserve tissulaire, un sous modèle spécifique aux métabolites, et l'absorption cutanée chez l'Homme (ECHA, 2015 ; SCCS, 2015)..... | 25 |
| Figure 3 : Modélisation de l'inflammation pulmonaire | 55 |

1 Contexte, objet et modalités de traitement de la saisine

1.1 Contexte

Une valeur toxicologique de référence, ou VTR, est un indice toxicologique qui permet de qualifier ou de quantifier un risque pour la santé humaine. Elle établit le lien entre une exposition à une substance toxique et l'occurrence d'un effet sanitaire indésirable. Les VTR sont spécifiques d'une durée d'exposition (aiguë, subchronique ou chronique) et d'une voie d'exposition (orale ou respiratoire). La construction des VTR diffère en fonction des connaissances ou des hypothèses formulées sur les mécanismes d'action des substances. Actuellement, l'hypothèse par défaut est de considérer une relation monotone entre l'exposition, ou la dose, et l'effet, ou la réponse. En l'état actuel des connaissances et par défaut, on considère généralement que, pour les effets non cancérogènes, la toxicité ne s'exprime qu'au-delà d'un seuil de dose (Anses, 2015).

En pratique, la construction de la VTR à seuil comprend les quatre étapes suivantes :

- choix de l'effet critique ;
- choix d'une étude de bonne qualité scientifique permettant généralement d'établir une relation dose – réponse ;
- choix ou construction d'une dose critique à partir des doses expérimentales et/ou des données épidémiologiques ;
- Ajustements et application de facteurs d'incertitude à la dose critique pour tenir compte des incertitudes.

L'élaboration des VTR suit une approche très structurée et exigeante qui implique des évaluations collectives par des groupes de spécialistes.

1.2 Objet de la saisine

Dans le cadre du programme de travail de la mission d'expertise sur les valeurs limites d'exposition professionnelles (VLEP) de l'Anses, un travail expertise en vue de la fixation de VLEP a été demandé pour le décaméthylcyclopentasiloxane (D5). Pour ce faire, un profil toxicologique a été réalisé.

L'Anses a souhaité valoriser le travail réalisé en proposant une VTR par inhalation pour le D5.

1.3 Modalités de traitement : moyens mis en œuvre et organisation

L'Anses a confié au comité d'experts spécialisé (CES) « Caractérisation des dangers des substances et valeurs toxicologiques de référence » la rédaction du profil toxicologique permettant de dériver des valeurs de référence et la construction de cette VTR¹.

Les travaux d'expertise des rapporteurs ont été soumis régulièrement au CES (tant sur les aspects méthodologiques que scientifiques). Le rapport produit par les rapporteurs tient compte des observations et éléments complémentaires transmis par les membres du CES.

Ces travaux sont ainsi issus d'un collectif d'experts aux compétences complémentaires.

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) »

1.4 Prévention des risques de conflit d'intérêt

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).

¹ La construction de la VLEP a été confiée au CES « Expertise en vue de la fixation de valeurs limites d'exposition à des agents chimiques en milieu professionnel ».

2 Informations générales

2.1 Identification de la substance

Le décaméthylcyclopentasiloxane (D5) fait partie des siloxanes cycliques de faible poids moléculaire, tout comme l'octaméthylcyclotetrasiloxane (D4).

Il a un squelette composé alternativement de 5 atomes de silicium (Si) et d'oxygène (O). Les atomes de silicium sont chacun liés à deux groupes méthyles (-CH₃).

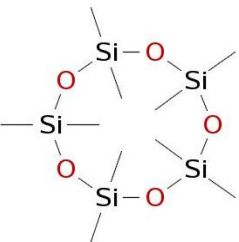
C'est un composé largement utilisé par l'industrie chimique depuis plus de 50 ans, qui possède de nombreuses applications :

- Intermédiaire dans la production de polymères de silicones, élastomères, résines,
- Formulation de produits cosmétiques comme agent anti-statique, émollient, conditionneur capillaire, humectant, solvant et agent de contrôle de la viscosité,
- Produits d'entretien (biocides),
- Produits électroniques,
- Industrie textile,
- Substitut du perchloroéthylène pour le nettoyage à sec dans les pressings.

La majorité de ces applications concernent une utilisation exclusivement au niveau industriel.

Par ailleurs, les consommateurs peuvent également être exposés au D5 dans la mesure où celui-ci est utilisé dans la formulation de certains produits cosmétiques ou entre dans la composition de certains produits d'entretien.

Tableau 1 : Identification de la substance

| | |
|---------------|--|
| Nom | Décaméthylcyclopentasiloxane |
| Numéro CAS | 541-02-6 |
| Numéro EINECS | 208-764-9 |
| Synonymes | Cyclopentasiloxane (INCI), D5, Pentacyclométhicone |
| Formule | $C_{10}H_{30}O_5Si_5$  |

2.2 Propriétés physico-chimiques

Tableau 2 : Propriétés physicochimiques

| | |
|--|--|
| Forme physique | Liquide huileux, clair à incolore, sans odeur |
| Masse molaire* | 370,77 g.mole ⁻¹ |
| Facteur de conversion à 25°C / 101 kPa** | 1 ppm = 15,1 mg.m ⁻³ , 1 mg.m ⁻³ = 0,0645 ppm |
| T° fusion** | - 44,2 °C |
| T° ébullition** | 211 °C |
| Point d'éclair*** | 70°C (méthode DIN 51755), 77°C et 82,7°C (coupelle fermée), et 85°C (coupelle ouverte) |
| Solubilité | 17-20 µg/L, soluble dans les solvants aliphatiques, aromatiques, et halogénés |
| Coefficient de partage logK _{o/w} * | 5,06 à 24 °C |
| Densité* | 0,954 |
| Pression de vapeur (Pa)* | 26,6 à 20 °C |
| Densité de la phase vapeur (par rapport à l'air) * | > 1 |

* Fiche toxicologique, INRS

** SCCS, 2015. Opinion on decamethylcyclopentasiloxane

*** Environment Agency. April 2009. Environmental Risk Assessment Report :

Decamethylcyclopentasiloxane

3 Synthèse des données toxicologiques

Concernant les références bibliographiques du D5, de nombreuses données mentionnées dans ce document sont retrouvées dans l'avis du Comité Scientifique pour la Sécurité des Consommateurs sur le D5 (SCCS, 2015) et sur le site internet de l'Agence Européenne des Produits Chimiques (ECHA) (données d'enregistrement publiques), et font référence à des études non publiées dans la littérature scientifique.

3.1 Toxicocinétique

3.1.1 Absorption

3.1.1.1 Inhalation

Le D5 est un composé modérément volatil. L'exposition par inhalation est donc une voie d'exposition probable.

Une étude non publiée a été réalisée chez des volontaires. Cinq sujets (3 hommes et 2 femmes) non-fumeurs, en bonne santé, et avec une fonction pulmonaire normale ont été exposés à 151 mg.m⁻³ (10 ppm) de vapeurs de D5 pendant une heure. La période d'exposition a été divisée en 3 périodes de repos de 10, 20 et 10 minutes, séparées par deux périodes d'exercice de 10 minutes chacune (utilisation d'un vélo elliptique avec pour objectif de tripler le volume respiratoire). Ce protocole a été réalisé à deux reprises chez chaque volontaire, à une semaine d'intervalle, avec soit une exposition au D5, soit une exposition à l'air. L'exposition au D5 a été déterminée de façon aléatoire, de sorte que les volontaires ne savaient pas s'ils étaient exposés au D5 ou non. Les niveaux de D5 dans l'air inhalé et exhalé ont été suivis continuellement durant l'exposition (ECHA, 2015 ; SCCS, 2015).

Il est mis en évidence dans cette étude que la fraction pénétrée est plus importante lors des phases de repos que lors des phases d'exercice, indiquant une pénétration du D5 plus importante en phases de repos (voir Tableau 3).

Tableau 3 : Données respiratoires du D5

| Paramètre | Exposition au D5 |
|------------------------------|------------------|
| Concentration inhalée (µg/l) | 150 +/- 3 |
| Masse de D5 inhalée (mg) | 162 +/- 29 |
| Fraction pénétrée | |
| Repos | 0,17 +/- 0,03 |
| Exercice | 0,10 +/- 0,03 |
| Général | 0,14 +/- 0,03 |
| Masse de D5 absorbée (mg) | 24,8 +/- 2,9 |

Chez des rats Fischer 344, mâles et femelles, une étude a analysé la toxicocinétique du D5 après une exposition par inhalation unique ou répétée, nez seul.

Dans l'étude par exposition unique, les rats ont été exposés à 105,7 ou 2416 mg.m⁻³ (7 ou 160 ppm) de vapeurs de ¹⁴C-D5 pendant 6 heures. Dans l'étude par exposition répétée, les rats ont été exposés à 2416 mg.m⁻³ (160 ppm) de D5 non radiomarké pendant 14 jours et à 2416 mg.m⁻³ (160 ppm) de ¹⁴C-D5 le 15^{ème} jour. Des sous-groupes ont été mis en place pour évaluer la charge corporelle, la distribution, l'élimination et la déposition. Dans chacun des sous-groupes, un minimum de 3 à 5 animaux par sexe par sous-groupe ou par temps de sacrifice a été utilisé.

Il apparait que la résorption² de D5 après exposition unique ou répétée est faible, de l'ordre de **1 à 2%** (Tobin *et al.*, 2008).

3.1.1.2 Ingestion

Au vu des usages du D5, l'exposition par la voie orale est *a priori* peu probable chez l'Homme.

La distribution du ¹⁴C-D5 a été évaluée chez les rats mâles et les femelles Fischer 344 à la suite d'une administration orale unique de 1000 mg/kg de ¹⁴C-D5 dans l'huile de maïs. Des femelles supplémentaires ont été exposées à du ¹⁴C-D5 seul ou dilué dans de la siméticone (silicone de faible volatilité utilisé en pharmaceutique) pour évaluer un effet potentiel du véhicule sur l'absorption et la distribution. Les animaux (4 par sexe/huile de maïs et 4 femelles/véhicule) ont été placés dans des cages à métabolisme pour la collecte des urines, fèces et des composés volatils

² Résorption : charge corporelle exprimée en pourcentage de la dose théorique reçue par chaque animal

expirés. Cent soixante-huit heures après l'administration, les animaux ont été euthanasiés et une sélection de tissus (foie, poumons, graisse péri-rénale, tractus gastro-intestinal, reins, surrénales, rate et organes reproducteurs) ainsi que la carcasse ont été collectés. Tous les échantillons ont été analysés pour évaluer le niveau de radioactivité. En plus de la radioactivité, les urines et les fèces ont été analysés pour évaluer la concentration du composé parent. Un groupe séparé d'animaux cathétérisés (6/mâles et 6 femelles/véhicule) a été utilisé pour déterminer la radioactivité et la concentration en D5 dans le sang 15 minutes, 1, 6, 12, 24, 48, 72, 96, 120, 144 et 168 heures après administration. Une autoradiographie corps entier a été réalisée pour évaluer la distribution de la radioactivité chez les mâles et les femelles après l'administration du D5 dans l'huile de maïs. Les animaux de ce groupe ont été sacrifiés 3, 12, 24, 49, 96 et 168 heures après l'administration.

L'absorption orale du ^{14}C -D5 administré dans l'huile de maïs est respectivement de 21,82 et 19,62% chez les mâles et les femelles. Le calcul est basé sur la radioactivité retrouvée dans les urines, les composés volatils expirés, le CO_2 expiré, les tissus et la carcasse. De plus, cette étude indique que l'absorption orale du D5 serait influencée par le véhicule utilisé. En effet, dilué dans de la siméticone, l'absorption du D5 est d'environ 25%, alors que l'absorption du D5 seul est d'environ 10% (ECHA, 2015 ; SCCS, 2015).

3.1.1.3 Contact cutané

Le D5 étant utilisé en tant que matière première cosmétique, la voie cutanée est une voie d'exposition probable chez l'Homme.

Des volontaires sains (3 hommes, 3 femmes) ont été exposés à 1,4 g (hommes) et 1 g (femmes) de ^{13}C -D5 au niveau axillaire. La dose administrée a été divisée entre les deux axillaires et appliquée en une fois. La surface d'application variait selon les volontaires (entre 4241 et 13430 mm²). Des échantillons sanguins ont été prélevés avant l'exposition et 0,5, 1, 2, 4 et 6 heures après l'exposition. Les échantillons d'air expiré ont été collectés avant l'exposition et 15, 30, 45, 60, 75, 90, 105, 120, 240, et 360 minutes et 24 heures après l'application.

Les concentrations plasmatiques de D5 restent inférieures à 2 ng/g de plasma chez les 2 sexes : 1,22 ng/g en moyenne 1 heure après l'exposition, et 0,61 ng/g en moyenne 6 heures après l'exposition (ECHA, 2015 ; SCCS, 2015).

Des études animales ont été réalisées avec du D5 seul ou formulé dans un produit cosmétique (antiperspirant).

Dans une première étude, l'absorption percutanée du ^{14}C -D5 seul a été évaluée chez des rats Fischer 344 par application topique sur 10,9 mg/cm² de peau. Quatre femelles par groupe ont été exposées pendant 6 ou 24 heures au D5. Dans le but de différencier le ^{14}C -D5 en provenance de l'air expiré de celui qui s'évapore de la peau, un groupe additionnel de 4 rates euthanasiées avant l'exposition de 24 heures a été inclus dans l'étude. Un groupe additionnel de 4 femelles exposé 24 heures a également été ajouté pour évaluer la distribution du D5 résiduel après un lavage à l'eau et au savon (« wash group »). Enfin, 2 femelles non exposées ont été euthanasiées à 24 heures (groupe contrôle). Durant l'exposition, les rats ont été placés dans des cages à métabolisme pour permettre le recueil des urines, des fèces, de l'air expiré et des volatils expirés

associés au D5. Concernant le « wash group », après exposition, les zones de peau exposées ont été lavées, les filtres à charbon (charcoal basket) remplacés, et les animaux ont été remis dans les cages à métabolisme pour continuer le recueil des excréta et des composés volatils pendant 168 heures. Toutes les rates ont été exposées de façon semi-occlusive. A la fin de l'exposition ou 168 heures après l'exposition, les rates ont été euthanasiées par asphyxie, les filtres à charbon extraits, la peau exposée lavée, excisée, et solubilisée dans une solution d'hydroxyde de tétraéthylammonium (TEAH) à 35%. La carcasse restante a également été solubilisée dans la même solution. La radioactivité de chaque échantillon a été mesurée par comptage par scintillation liquide (LSC). La radioactivité totale dans les filtres à charbon a été comparée au D5 inchangé déterminé par GC-MS (chromatographie gazeuse couplée à la spectrométrie de masse). Le pourcentage de D5 absorbé a été déterminé comme la somme de la radioactivité dans la carcasse, les urines, les fèces, les sites de dépôt et le rinçage de la cage. L'absorption du ^{14}C -D5 après 168 heures a été déterminée à 0,09 %. Il est à noter qu'une grande partie du D5 présent dans le compartiment peau remonte à la surface et s'évapore tout au long de l'étude (Jovanovic *et al.* 2008).

Dans une deuxième étude, le ^{14}C -D5 a été appliqué sur la surface dorsale (2,54 cm²) de rats mâles et femelles Sprague-Dawley rasés. Le site d'application avait été couvert d'un emballage plastique non occlusif. A la fin des 24 heures d'exposition, les animaux ont été déplacés et le site d'exposition a été lavé. Le bandage des animaux a été changé, et ils ont été replacés dans les cages à métabolisme pour la collecte des excréta. Après 96 heures en cage de métabolisme, les animaux ont été sacrifiés et le site d'exposition découpé pour analyse. La majorité (environ 85%) du ^{14}C -D5 s'est évaporée de la surface de la peau. Le site d'exposition, lavé, contenait 0,35% de la dose appliquée. La radioactivité totale dans les excréta, la carcasse, et le site d'exposition (considérée comme la quantité absorbée) était de 0,80% (ECHA, 2015 ; SCCS, 2015).

In vitro, les résultats obtenus diffèrent sensiblement selon l'étude retenue.

Dans une première étude, de la peau fraîche excisée de 381-629 µm de jeunes rats adultes Sprague-Dawley a été montée sur une cellule de diffusion de Franz. Le liquide récepteur consistait en 6% de polyoxyéthylène-20oleyl éther et 1% de pénicilline/streptomycine dans une solution saline. Un screening initial pour vérifier l'intégrité de la peau a été réalisé en appliquant 970 µl de $^3\text{H}_2\text{O}$ (0,77 µCi) sur la surface de la peau pendant 20 minutes. Après l'application de $^3\text{H}_2\text{O}$, la radioactivité non absorbée a été enlevée de la peau. Le fluide récepteur a été échantillonné et analysé pour le tritium au bout de 60 minutes. Concernant l'expérimentation, 6,4 mg/cm² de ^{14}C -D5 ont été appliqués à chaque échantillon de peau. Le nettoyage a été réalisé en utilisant une compresse humidifiée avec une solution à 1% de savon 3 fois de suite, suivi par 3 nettoyages avec une compresse humidifiée par une solution d'éthanol à 70%. La peau a été solubilisée dans du TEAH à 40%. Des mesures de ^{14}C présent dans les compresses de lavages de la peau exposée (fraction non absorbée), dans la peau et dans le liquide récepteur ont été réalisées après une exposition de 24h. L'absorption cumulée a été calculée à partir de la quantité de radioactivité dans le fluide récepteur dans la période de 24 heures. Le pourcentage de radioactivité trouvé dans la peau était de 0,67% et 1,19% chez les mâles et les femelles respectivement. La totalité pénétrée (pourcentage de radioactivité dans la peau et le fluide récepteur) était de 1,08% et 1,54% chez les mâles et les femelles respectivement (ECHA, 2015 ; SCCS, 2015).

Dans une seconde étude, l'absorption de ^{14}C -D5 appliqué de façon semi occlusive sur de la peau humaine décongelée a été évaluée. L'épiderme humain a été préparé à partir de peau abdominale intacte. Des disques de peau dermatomée (300-500 μm) de 6 donneurs ont été montés en répliques sur des cellules de diffusion à flux continu. Le liquide récepteur consistait en une solution saline avec 0,6% d'HEPES, 0,005% de généticine et 4% d'albumine de sérum bovin. L'intégrité de la barrière cutanée a été évaluée avant le dosage en appliquant pendant 20 minutes du $^3\text{H}_2\text{O}$ sur la surface de la peau. Les échantillons de peau ont été évalués sur deux journées différentes. Dans la première expérimentation, les échantillons de peau de 3 donneurs ont été exposés à du D5 seul, et les 3 autres ont été exposés à un antiperspirant générique contenant du D5. Dans la deuxième expérimentation, une deuxième série d'échantillons de peau des mêmes 6 donneurs ont été exposés au composé auquel ils n'avaient pas été exposés à la première expérimentation (D5 ou antiperspirant). Immédiatement après l'exposition, des « filtres à charbon » ont été placés au-dessus des échantillons de peau dans l'objectif de piéger tout matériel évaporé. Au bout de 24 heures, les « filtres à charbon » ont été enlevés, la peau lavée et solubilisée, et le fluide récepteur récupéré. La radioactivité de chaque échantillon a été mesurée par LSC. Le pourcentage de dose pénétrée a été déterminé comme le taux de radioactivité dans le fluide récepteur et le taux présent dans les couches du stratum corneum prélevé avec du ruban adhésif (« tape stripping »). A la fin de l'étude, seulement 0,04% de la dose appliquée de D5 seul a pénétré (total retrouvé dans la peau et le liquide récepteur), et 0,022% du D5 formulé en tant qu'antiperspirant. Ces résultats apparaissent conformes à ceux retrouvés dans les études *in vivo* (Jovanovic *et al.* 2008).

La résorption cutanée apparaît donc très faible pour cette substance. Les autorités Canadiennes ont retenu la valeur de 0,17% de résorption cutanée, basée sur la publication de Jovanovic *et al.* (Santé Canada, 2008). Le SCCS a quant à lui choisi de se baser sur l'étude *in vitro* sur peau humaine, retenant après correction une résorption de 0,06% (SCCS, 2015).

3.1.2 Distribution

3.1.2.1 Inhalation

Tobin *et al.* (2008), dans une étude sur des rats Fischer décrite précédemment à la section 3.1.1.1. ont également étudié la distribution du D5 suite à une exposition unique ou répétée. Le D5 est rapidement distribué dans tout l'organisme avec un profil similaire pour les deux sexes. La concentration maximale dans la plupart des tissus est retrouvée dans les 3 premières heures suivant l'exposition. L'exception est le tissu adipeux. La concentration reste plutôt stable dans ce tissu dans les 168 heures suivant l'exposition, contrairement aux autres où la concentration en D5 a tendance à diminuer rapidement.

Dans les 3 premières heures suivant l'exposition unique à 105,7 $\text{mg}\cdot\text{m}^{-3}$ (7 ppm) de D5, les concentrations de ^{14}C les plus élevées sont retrouvées dans le petit et le gros intestin, l'estomac, la glande thyroïde (uniquement chez les mâles), les poumons et les glandes surrénales. A la suite d'une exposition, unique ou répétée à 2416 $\text{mg}\cdot\text{m}^{-3}$ (160 ppm), les concentrations maximales de D5 sont retrouvées dans le petit et le gros intestin, les glandes surrénales et les poumons.

Généralement, après une exposition unique, les niveaux de radioactivité à T0 dans les tissus sont plus élevés chez les mâles que chez les femelles. Cette tendance semble s'inverser suite à une exposition répétée, les femelles présentant majoritairement des niveaux de radioactivité plus élevés que les mâles.

3.1.2.2 Ingestion

Dans une étude non publiée décrite précédemment (cf. 3.1.1.2. ECHA, 2015 ; SCCS, 2015) une radiographie du corps entier a été réalisée sur les rats exposés à du D5 administré dans de l'huile de maïs. Elle a montré que la radioactivité était présente dans l'organisme entier et distribuée dans les organes majeurs, notamment la moelle osseuse, le foie, les reins et le tissu adipeux.

3.1.2.3 Contact cutané

Dans une étude non publiée décrite précédemment (cf. 3.1.1.3. ECHA, 2015 ; SCCS, 2015), aucune radioactivité n'a été retrouvée dans le sang des rats après contact cutané avec du D5 radioactif à aucun moment de l'étude. Seules des traces de ^{14}C ont été retrouvées dans certains tissus (surrénales, cerveau, tissu adipeux, reins, foie, poumons et rate), le foie et le tissu adipeux ayant les taux les plus importants.

3.1.3 Métabolisme

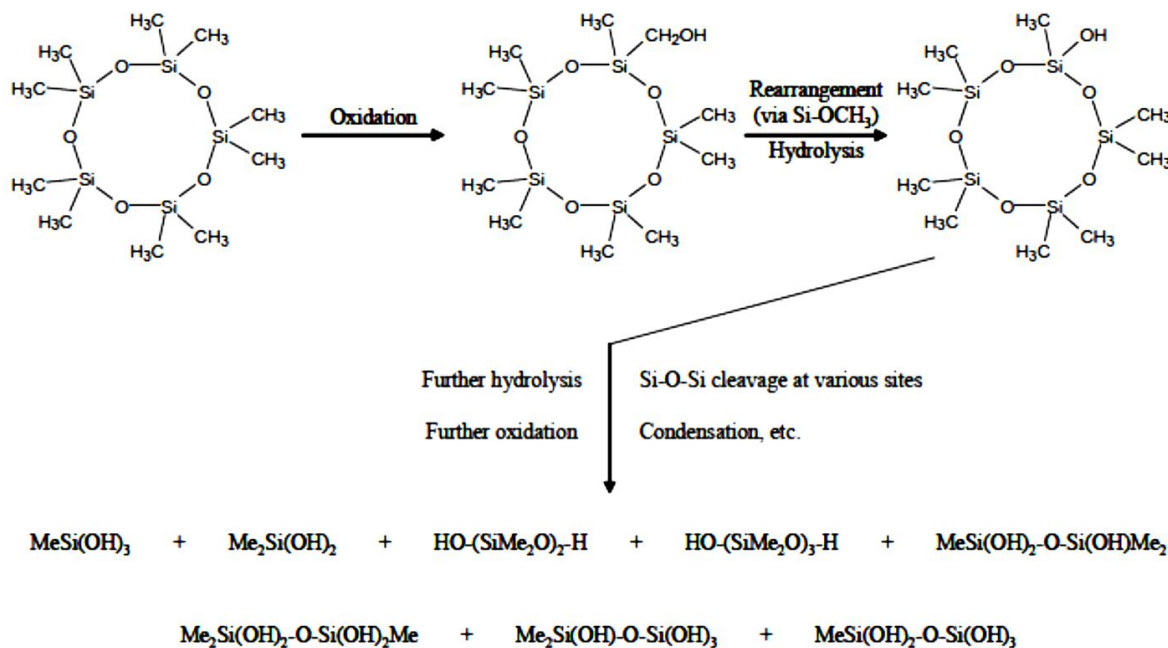
Tobin *et al.* (2008, cf. 3.1.1.1) ont également étudié la métabolisation suite à une exposition par inhalation. La comparaison de la radioactivité totale et du parent D5 montre que la majorité des tissus contient le composé parent et ses métabolites. Le pourcentage attribué aux métabolites est égal ou supérieur à 50% dans le plasma, le foie, les poumons et les fèces à la suite d'une exposition unique. Environ 30% de la radioactivité dans le tissu adipeux est associée à la présence de métabolites du D5. Après une exposition unique, les données sont comparables entre les mâles et les femelles. Les auteurs ont cependant identifié des différences de genre dans la répartition de la radioactivité entre le D5 et ses métabolites dans le plasma et le foie après une exposition répétée. Les mâles ont tendance à avoir un plus grand pourcentage de radioactivité associé aux métabolites par rapport aux femelles. McKim *et al.* (1999) ont démontré l'induction de l'enzyme CYP P450 2B1/2 à la suite d'une exposition répétée au D5. La diminution chez les femelles du pourcentage de radioactivité attribuée aux métabolites entre l'exposition unique et répétée (71% vs 48% dans le plasma et 84% vs 70% dans le foie), contrairement à ce qui est observé chez les mâles, pourrait donc suggérer une inhibition ou une saturation de l'enzyme à la suite d'une exposition répétée. Cependant, la diminution de la part de la radioactivité attribuée aux métabolites dans les poumons suite à une exposition répétée est similaire dans les deux sexes.

D'un point de vue qualitatif, 2 métabolites majeurs, le méthylsilanetriol et le diméthylsilanediol, et 5 métabolites mineurs ont été identifiés dans les urines, alors que le D5 n'a lui pas été détecté. Dans les fèces, 2 composés ont été observés, le D5, et très probablement le D5 hydroxylé.

La métabolisation semble similaire après une exposition par voie orale, avec la totalité de la radioactivité retrouvée dans les urines attribuée à des métabolites polaires, et une majorité de radioactivité dans les fèces attribuée au D5 (cf. 3.1.1.2. ECHA, 2015 ; SCCS, 2015).

La nature des métabolites identifiés, et notamment le méthylsilanetriol indique qu'une déméthylation semble entrer en jeu dans le métabolisme du D5 (Varaprath *et al.* 2003). Varaprath *et al.* (2003) ont proposé un schéma métabolique du D5 (figure 1).

Figure 1 : Schéma métabolique du D5 envisagé chez les rats Fischer 344



3.1.4 Excrétion

3.1.4.1 Inhalation

Plusieurs études ont été réalisées, fournissant des informations sur l'élimination du D5 après inhalation.

Chez l'Homme, dans l'étude décrite précédemment (cf. 3.1.1.1), les concentrations plasmatiques en D5 atteignent leur maximum immédiatement suivant l'exposition (52 ng/g de plasma), puis reviennent à un niveau basal dans les 24h. De plus, plus de 75% du D5 est éliminé dans les 6 heures, indiquant une élimination rapide du composé (ECHA, 2015 ; SCCS, 2015).

Dans une étude non publiée, des rats Fischer 344 ont reçu une exposition unique de 105,7 ou 2416 mg.m⁻³ (7 ou 160 ppm) à des vapeurs de D5 (nez seul) (ECHA, 2015 ; SCCS, 2015). Il a été mis en évidence que la radioactivité est excrétée principalement dans les fèces et les urines, sans différence de genre. L'élimination par l'air expiré arrive ensuite avec approximativement 10% de la charge corporelle chez les mâles, et 3% chez les femelles, puis le CO₂ expiré (5% chez les mâles, 3,5% chez les femelles) (voir tableau ci-dessous).

Tableau 4 : Pourcentages moyens de la charge corporelle de D5 dans les échantillons chez les mâles et les femelles à 168 heures après exposition au D5 (ECHA, 2015 ; SCCS, 2015)

| Concentration d'exposition/genre | Tissus* | Rinçage du tube** | Urines | fèces | Rinçage de la cage** | Composés volatils expirés | CO ₂ Expiré |
|--------------------------------------|---------|-------------------|--------|-------|----------------------|---------------------------|------------------------|
| 105,7 mg.m ⁻³ mâles | 8,58 | 1,88 | 33,4 | 21,4 | 2,95 | 9,18 | 5,11 |
| 105,7 mg.m ⁻³ femelles | 10,4 | 3,43 | 28,2 | 21,4 | 1,91 | 2,97 | 3,64 |
| 2416 mg.m ⁻³ mâles | 9,35 | 3,30 | 29,4 | 50,3 | 1,09 | 11,3 | 4,93 |
| 2416 mg.m ⁻³ femelles | 9,16 | 5,16 | 21,6 | 33,6 | 3,60 | 2,66 | 3,61 |

*Le total n'inclut pas la graisse, le plasma ou le sang total.

**Le rinçage du tube et de la cage à l'éthanol ont pour objectif la récupération des résidus de fèces et d'urine.

Cependant, dans l'étude de Tobin *et al.* (2008), après une exposition unique ou répétée, nez seul, la radioactivité est excrétée principalement dans l'air expiré (> 50%). Les pourcentages de radioactivité retrouvés dans les urines et les fèces sont similaires, s'élevant à environ 15%. Le reste de la radioactivité est retrouvé dans le CO₂ expiré et la carcasse. La majorité de la radioactivité est éliminée dans les 24 heures suivant l'exposition. Il n'y a pas de différence significative identifiée entre les mâles et les femelles, ou selon le type d'exposition (unique, répétée...)

Cette différence majeure entre ces 2 études dans le bilan de masse du D5 s'expliquerait par un temps de latence entre l'enlèvement des animaux de la chambre d'exposition et l'euthanasie lors du calcul de la charge corporelle dans la première étude (ECHA, 2015 ; SCCS, 2015), amenant à une perte d'information concernant la prise en compte des composés volatils expirés.

Cependant, il est à noter que Tobin *et al.* (2008) ont identifié un dépôt de D5 sur le pelage des animaux, malgré l'exposition nez seul. Selon les auteurs, ce phénomène s'expliquerait par la volatilité du D5, sa faible tension superficielle, ainsi que le faible poids des animaux. Cette présence de D5 sur le pelage des animaux conduit à son évaporation, ce qui surestime la concentration éliminée par l'air expiré. Cependant, en se basant sur l'analyse des modèles PBPK existant (voir partie 3.1.5), Tobin *et al.* ont estimé que même en prenant en compte ce biais, cette voie d'élimination resterait majoritaire.

3.1.4.2 Ingestion

Dans l'étude chez des rats Fischer 344 décrite précédemment (ECHA, 2015 ; SCCS, 2015, cf. 3.1.1.2), la majorité de la radioactivité administrée n'est pas retrouvée dans les tissus, mais excrétée dans les fèces, quel que soit le véhicule utilisé ou le sexe de l'animal (>80% de la dose administrée). Les autres voies d'élimination principales sont les urines et l'air expiré qui représentent respectivement plus de 4 et 10% de la dose administrée.

3.1.4.3 Contact cutané

Au regard des très faibles niveaux d'absorption, l'excrétion est difficile à estimer pour la voie cutanée.

Dans l'étude chez des volontaires humains (ECHA, 2015 ; SCCS, 2015, cf. 3.1.1.3), les concentrations plasmatiques de D5 diminuent jusqu'à un niveau inférieur à la limite de détection dans les 24 heures suivant l'application cutanée.

Dans l'étude chez des rats décrite précédemment (ECHA, 2015 ; SCCS, 2015, cf 3.1.1.3), moins de 1% de la radioactivité est retrouvée dans les urines et la carcasse. Des traces de radioactivité sont également identifiées dans les fèces et le CO₂ expiré.

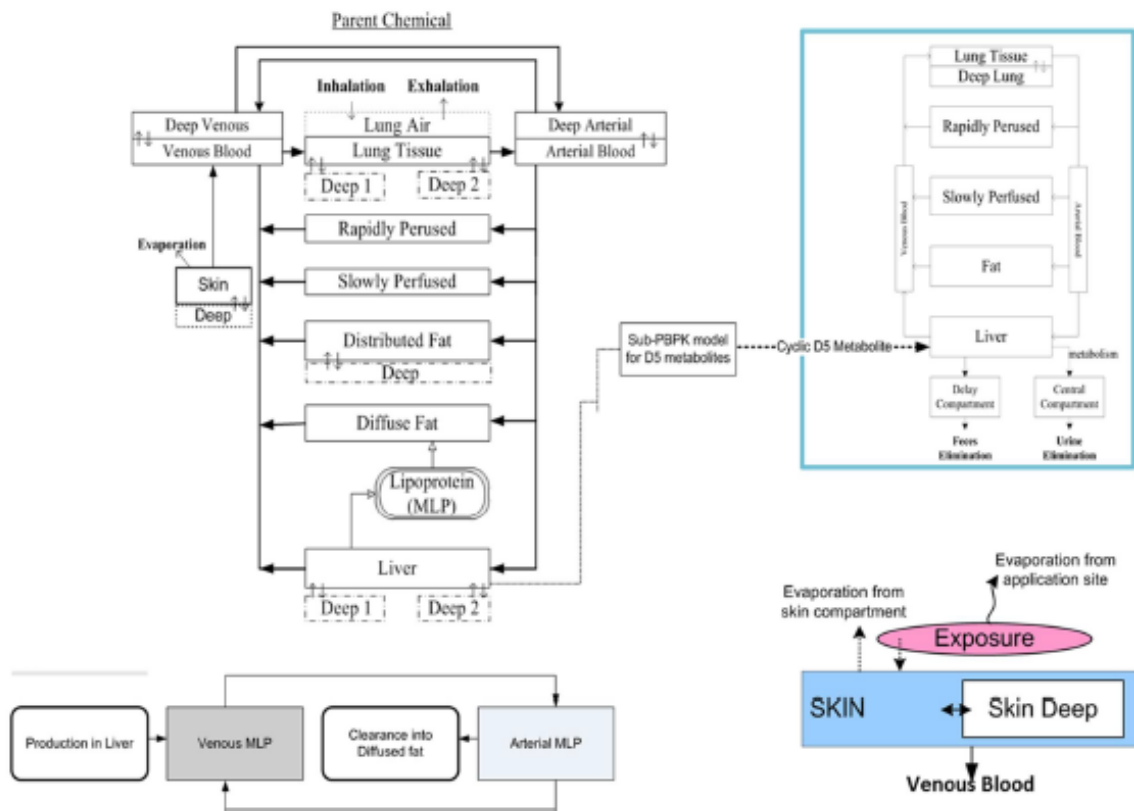
3.1.5 **Modèle PBPK**

En association avec le développement des données de cinétique, différents modèles PBPK ont été publiés afin de décrire le processus physico-chimique et biologique régulant la cinétique du D5, chez différentes espèces et pour différentes voies d'exposition.

Dans l'objectif d'évaluer l'exposition combinée à différentes voies d'exposition simultanément, un modèle harmonisé a été développé dans une étude non publiée (ECHA, 2015 ; SCCS, 2015). Ce modèle incorpore les données des modèles disponibles pour les rats et les humains, ainsi que les différentes voies d'exposition.

Ce modèle harmonisé consiste en 6 compartiments tissulaires incluant le sang, les poumons, le foie, les tissus à perfusion lente, et les tissus à perfusion rapide (figure 2)

Figure 2 : Modèle PBPK harmonisé décrivant les concentrations tissulaires du D5, la production et la distribution d'une réserve tissulaire, un sous modèle spécifique aux métabolites, et l'absorption cutanée chez l'Homme (ECHA, 2015 ; SCCS, 2015)



3.2 Toxicité aiguë

3.2.1 Données chez l'Homme

Dans l'étude par inhalation sur volontaires décrite précédemment (cf 3.1.1.1), les effets sanitaires du D5 ont également été évalués (ECHA, 2015 ; SCCS, 2015). Les sujets se sont vu remettre un questionnaire pour décrire leurs symptômes. La réponse immunologique et les paramètres sanguins (hémogramme, albumine, ALAT, ASAT, bilirubine totale, créatinine, protéines totales, azote uréique sanguin) ont également été évalués, immédiatement après, et 1, 6 et 24 heures après l'exposition. La fonction pulmonaire a été testée par des tests respiratoires réalisés avant et après l'exposition. Aucune différence n'est observée chez les volontaires exposés au D5 ou à l'air.

3.2.2 Données chez l'animal

3.2.2.1 Exposition par voie orale

Quatre études sont disponibles pour la toxicité aiguë par voie orale et sont résumées dans le tableau ci-dessous :

Tableau 5 : Etudes de toxicité aiguë par voie orale

| Référence | Lignes directrices | BPL | Dose (mg/kg pc) | Méthode | Espèce, sexe | Résultats |
|--------------------------------|-----------------------|-----|-----------------|---------|-------------------------------------|---|
| ECHA, 2015 ; SCCS, 2015 | Comparable à OCDE 401 | Oui | 5000 | Gavage | Rats Sprague-Dawley (5/sexe/groupe) | Aucun signe de toxicité, aucun décès |
| | OCDE 401 | Non | 4800 | Gavage | Rats Wistar (5/sexe/groupe) | Aucun signe de toxicité, aucun décès |
| | Comparable à OCDE 401 | Non | 20000 | Gavage | Rats Sprague-Dawley (5/sexe/groupe) | Diminution de l'activité motrice 4h après administration chez 1 mâle et 3 femelles. Salivation excessive dans l'heure suivant l'administration chez 2 mâles et 3 femelles |
| Carpenter <i>et al.</i> , 1974 | Comparable à OCDE 401 | Non | 61440 | Gavage | Rats Wistar (5 mâles) | DL ₅₀ > 61440 mg/kg pc |

Les doses utilisées dans les deux dernières études présentées dans le tableau ci-dessus apparaissent bien trop élevées pour être utiles aux fins d'évaluation de la toxicité, et remettent en question la pertinence même de ces études.

3.2.2.2 Exposition par inhalation

Deux études sont disponibles pour la toxicité aiguë par inhalation et sont résumées dans le tableau ci-dessous :

Tableau 6 : Etudes de toxicité aiguë par inhalation

| Référence | Lignes directrices | BPL | Exposition | Dose (mg.m ⁻³) | Espèce, sexe | Résultats |
|----------------------------|--------------------|-----|------------------------|----------------------------------|--------------------------------|---|
| ECHA, 2015 ; SCCS, 2015 | OCDE 403 | Oui | Nez seul, 4 heures | 4620, 6730, 9820, 15370 | Rats F344 (5/sexe/groupe) | CL ₅₀ = 8670 mg.m ⁻³ |
| | OCDE 403 | Oui | Corps entier, 4 heures | 8230 | Rats Wistar (5/sexe/groupe) | CL ₅₀ > 8230 mg.m ⁻³ Aucun signe de toxicité |

Il est à noter que dans ces études, la concentration est telle que les animaux ne sont plus exposés seulement à des vapeurs, mais également à des aérosols.

3.2.2.3 Exposition par contact cutané

Deux études sont disponibles pour la toxicité aiguë par contact cutané et sont résumées dans le tableau ci-dessous :

Tableau 7 : Etudes de toxicité aiguë par contact cutané

| Référence | Lignes directrices | BPL | Méthode | Dose (mg/kg pc) | Espèce, sexe | Résultats |
|----------------------------------|-----------------------|-----|-------------|-------------------------------------|---|--|
| ECHA, 2015 ; SCCS, 2015 | Comparable à OCDE 402 | Non | Dose unique | 2000 (25% de la surface corporelle) | Lapin Néo-Zélandais, (3/sexe/groupe) | LD ₅₀ > 2000 mg/kg pc. Pas de toxicité systémique, pas de mortalité |

| | | | | | | |
|-----------------------------------|--------------------------|-----|----------------|-------|-------------------------------------|--------------------------------------|
| Carpenter <i>et al.</i> , 1974 | Comparable à OCDE 402 | Non | Dose unique | 15360 | Lapin Néo- Zélandais, 4 mâles | LD ₅₀ > 15360 mg/kg pc |
|-----------------------------------|--------------------------|-----|----------------|-------|-------------------------------------|--------------------------------------|

3.3 Irritation

3.3.1 Données chez l'Homme

Un Human Repeated Insult Patch Test (HRIPT) a été réalisé pour évaluer l'irritation et la sensibilisation du D5. Vingt-huit hommes et 22 femmes ont été traités avec 9 applications cutanées de 0,05 ml de D5 pur, à raison de trois fois par semaine. La substance testée a été appliquée sous un patch occlusif pendant 24 heures. Après le retrait du patch, l'apparition d'érythèmes, d'escarres et d'œdèmes cutanés a été recherchée. Douze jours après la dernière application, 0,05 ml de D5 a été appliqué sur un nouveau site, et recouvert pendant 24 heures avec un patch occlusif, à la suite de quoi l'apparition d'érythèmes, d'escarres et d'œdèmes cutanés a de nouveau été recherchée, immédiatement et 24 et 48 heures après le retrait du patch. Aucune irritation cutanée n'est observée dans cette étude (ECHA, 2015 ; SCCS, 2015).

3.3.2 Données chez l'animal

3.3.2.1 Irritation respiratoire

Aucune donnée n'est disponible concernant l'irritation respiratoire pour le D5.

3.3.2.2 Irritation cutanée

Quatre études sont disponibles pour l'évaluation de l'irritation cutanée et sont résumées ci-dessous :

Tableau 8 : Etudes d'irritation cutanée

| Référence | Lignes directrices | BPL | Méthode | Concentration | Espèce, sexe | Résultats |
|----------------------------|--------------------|-----|--|--|--|---|
| ECHA, 2015 ; SCCS, 2015 | OCDE 404 | Oui | Irritation cutanée aiguë/corrosion : exposition 24h | Non dilué (0,5 ml) surface : 6,45 cm ² | Lapin Néo-Zélandais (3/sexe/groupe) | Pas d'irritation cutanée. Évaluée 24 et 72h après l'exposition |

| | | | | | | |
|--|--|-----|--|--|------------------------|--------------------------|
| | OCDE 404 | Oui | Irritation cutanée aiguë/corrosion : exposition 4 et 24h | Non dilué (0,4 ml) Surface : 14,8 cm ² | 3 lapins Néo-Zélandais | Pas d'irritation cutanée |
| | Federal Regulation Title 16, Section 1500.41 | Oui | Irritation cutanée aiguë/corrosion : exposition 4 et 24h | Non dilué | 6 lapins | Pas d'irritation cutanée |

De plus, le potentiel irritant du D5 a également été testé suite à une exposition répétée. Vingt-quatre lapins Néo-Zélandais albinos (13 mâles, 11 femelles) ont reçu 1000 mg/kg pc de solution saline ou de D5 pendant 21 jours, sur une surface de peau de 40 cm². Une abrasion de la peau sur le site d'exposition a été réalisée sur 12 des 24 animaux testés. Le D5 n'a pas révélé de potentiel irritant (ECHA, 2015 ; SCCS, 2015).

3.3.2.3 Irritation oculaire

Quatre études sont disponibles pour l'évaluation de l'irritation oculaire et sont résumées dans le tableau ci-dessous :

Tableau 9 : Etudes d'irritation oculaire

| Référence | Lignes directrices | BPL | Méthode | Concentration | Espèce, sexe | Résultats |
|----------------------------|-----------------------|-----|----------------|---|---|---------------------|
| ECHA, 2015 ; SCCS, 2015 | Comparable à OCDE 405 | Oui | Test de Draize | Application unique de D5 non dilué dans le sac conjonctival | Lapin Néo-Zélandais (3/sexe/groupe) | Pas d'irritation |
| | Comparable à OCDE 405 | Non | Test de Draize | D5 non dilué. Groupe 1 : non rincé, groupe 2 : rincé 4 sec ap. application | Lapin Néo-Zélandais (3 femelles/groupe) | Légèrement irritant |
| | OCDE 405 | Non | Draize test | D5 non dilué appliqué 24h | Lapins (n=3) | Légèrement irritant |

| | | | | | | |
|--|-----------------------|-----|-------------|--|--------------|------------------|
| | Comparable à OCDE 405 | Non | Draize test | D5 non dilué. Traitement unique ou répété, 2 fois/j, 4 jours | Lapins (n=5) | Pas d'irritation |
|--|-----------------------|-----|-------------|--|--------------|------------------|

Concernant la première étude décrite dans ce tableau, il est à noter qu'il n'y a pas eu d'observation réalisée dans l'heure suivant l'application, contrairement aux recommandations de l'OCDE (OCDE, 2012).

3.4 Sensibilisation

3.4.1 Données chez l'Homme

Dans le HRIPT décrit précédemment (ECHA, 2015 ; SCCS, 2015, cf. 3.3.1), aucune sensibilisation cutanée n'a été mise en évidence.

3.4.2 Données chez l'animal

Aucune donnée n'est disponible concernant la sensibilisation respiratoire.

Quatre études sont disponibles pour l'évaluation de la sensibilisation cutanée et sont résumées dans le tableau ci-dessous :

Tableau 10 : Etudes de sensibilisation cutanée

| Référence | Lignes directrices | BPL | Méthode | Concentration | Espèce, sexe | Résultats |
|----------------------------|-----------------------|-----|---|--|---|-------------------|
| ECHA, 2015 ; SCCS, 2015 | Comparable à OCDE 429 | Oui | Essai de stimulation locale des ganglions lymphatiques (Local Lymph Node Assay) | 10, 50 et 100% (dilution dans l'acétone/huile d'olive) | Souris (5/groupe) | Non sensibilisant |
| | Test de Buehler | Oui | Test de Buehler | Données non disponibles | Cochon d'Inde Hartley (7 mâles, 8 femelles) | Non sensibilisant |

| | | | | | | |
|--|-------------------|-----|-------------------|---|--------------------------------|-------------------|
| | Magnusson-Kligman | Oui | Magnusson-Kligman | Intracutané (1%) ; Epicutané (non dilué) Challenge : non dilué ou 10% (huile de paraffine) | Cochon d'Inde (n=20) | Non sensibilisant |
| | Magnusson-Kligman | Oui | Magnusson-Kligman | 100% (0,1ml) | Cochon d'Inde Hartley (5/sexe) | Non sensibilisant |

3.5 Toxicité subchronique et chronique

En introduction de cette partie, les études de toxicité par exposition répétée sont résumées dans le tableau ci-dessous.

Tableau 11 : Résumé des études de toxicité par exposition répétée

| Référence | Lignes directrices BPL | Protocole | Résultats |
|----------------------------------|---------------------------|---|--|
| Inhalation | | | |
| 28 jours | | | |
| Burns-Naas <i>et al.</i> , 1998a | OCDE 412 Oui | 10,18 ; 25,44 ; 76,39 ; 162,96 ppm (0 ; 154 ; 384 ; 1153 ; 2461 mg.m ⁻³), vapeurs corps entier Rats Fischer 344 15/sexe/groupe | Augmentation du poids des poumons chez les mâles à 2461 mg.m ⁻³ . Augmentation de l'accumulation de macrophages alvéolaires dans les poumons. Augmentation des cellules à mucus dans la cavité nasale. Augmentation du poids absolu et relatif du foie chez les femelles à 2461 mg.m ⁻³ et du poids relatif chez les mâles. Diminution de la phosphatase alcaline (12%) chez les femelles à 2461 mg.m ⁻³ . Aucune lésion histopathologique n'a été observée dans cet organe. Chez les femelles, diminution du nombre d'hématies, de l'hémoglobine et de l'hématocrite à 2461 mg.m ⁻³ . Aucun de ces effets n'est retrouvé après arrêt |

| | | | |
|-------------------------|-----------------|---|---|
| | | | du traitement. |
| ECHA, 2015 ; SCCS, 2015 | OCDE 412 Oui | 0 ; 28 ; 42 ; 97 ; 151/197 ppm (0 ; 423 ; 634 ; 1465 ; 2280/2975 mg.m ⁻³), vapeurs, sauf plus haute dose (40% aérosols) nez seul Rats Fischer 344 10/sexe/groupe | <p>Augmentation du poids absolu et relatif du foie chez les femelles, associé à des hypertrophies hépatocellulaires à la plus haute dose.</p> <p>Augmentation du poids absolu et relatif des poumons chez les mâles et les femelles à la plus haute dose. Augmentation de la prolifération des cellules à mucus et accumulation des macrophages focaux et inflammation interstitielle des poumons chez les mâles et les femelles. Tous ces effets sont observés à la plus haute dose.</p> <p>Augmentation de la créatinine chez les mâles à la plus haute dose. Augmentation des triglycérides chez les 2 sexes aux 2 plus hautes doses. Diminution de l'activité de la phosphatase alcaline chez les femelles aux 2 plus fortes doses. Diminution du calcium chez les femelles aux 3 plus fortes doses.</p> <p>Augmentation de la concentration en globuline et diminution du ratio albumine/globuline chez les femelles de la plus forte dose.</p> <p>Modifications hématologiques : augmentation des leucocytes totaux et des lymphocytes chez les mâles aux 2 plus hautes doses. Diminution du volume globulaire moyen (VGM) chez les mâles et les femelles et augmentation de la concentration corpusculaire moyenne de l'hémoglobine (CCMH) chez les femelles à la plus haute dose.</p> |
| ECHA, 2015 ; SCCS, 2015 | / Non | 0 ; 160 ppm (0 ; 2416 mg.m ⁻³), vapeurs corps entier Groupes sacrifiés aux 6 ^{ème} et 13 ^{ème} et 27 ^{ème} jours Rats Fischer 344 10♀/groupe | <p>Augmentation réversible du poids du foie, associée à une hyperplasie hépatocellulaire et une hypertrophie centrolobulaire transitoire.</p> <p>Augmentation de l'hyperplasie cellulaire thyroïdienne sans augmentation du poids de la thyroïde.</p> |
| ECHA, 2015 ; SCCS, 2015 | OCDE 412 Oui | 0 ; 5,35 ; 28,55 ; 132,29 ppm (0 ; 81 ; 431 ; 1998 mg.m ⁻³) corps entier | <p>Augmentation du poids relatif du foie chez les mâles et les femelles à 1998 mg.m⁻³.</p> <p>Diminution des hématies à 1998 mg.m⁻³ et augmentation des leucocytes et des</p> |

| | | | |
|----------------------------------|-----------------|---|--|
| | | <p>Etude observationnelle 14 jours après arrêt de l'exposition à la plus forte dose</p> <p>Rats Wistar</p> <p>10/sexe/groupe</p> <p>(+ 5 /sexe pour l'étude observationnelle)</p> | <p>neutrophiles à 431 et 1998 mg.m⁻³ chez les mâles. Augmentation du volume corpusculaire moyen à 1998 mg.m⁻³, et diminution de la concentration moyenne de l'hémoglobine corpusculaire à 431 et 1998 mg.m⁻³chez les mâles.</p> <p>Légers infiltrats leucocytaires périvasculaires ou péribronchiolaires dans les poumons de 7 mâles et 6 femelles à la plus haute dose. Tous ces effets sont réversibles après arrêt du traitement.</p> <p>Augmentation de la densité urinaire chez les mâles à 1998 mg.m⁻³ après la période de récupération.</p> <p>Diminution de la phosphatase alcaline chez les mâles à 1998 mg.m⁻³ après la période de récupération. Augmentation de la créatinine plasmatique chez les femelles à 1998 mg.m⁻³ après la période de récupération.</p> |
| 90 jours | | | |
| ECHA, 2015 ; SCCS, 2015 | OCDE 413 Oui | <p>0 ; 20 ; 59 ; 119 ppm (0 ; 302 ; 891 ; 1797 mg.m⁻³), vapeurs corps entier</p> <p>Etude observationnelle 28 jours après arrêt de l'exposition à la plus forte dose</p> <p>Rats Sprague Dawley</p> <p>10/sexe/groupe</p> <p>(+10 /sexe pour l'étude observationnelle)</p> | <p>Augmentation du poids relatif du foie chez les femelles à 1797 mg.m⁻³, non retrouvé après arrêt du traitement.</p> |
| Burns-Naas <i>et al.</i> , 1998b | OCDE 413 Oui | <p>0 ; 28,6 ; 49,2 ; 87,7 ; 233 ppm (0 ; 432 ; 743 ; 1324 ; 3518 mg.m⁻³), vapeurs, sauf plus haute dose (40% aérosols) nez seul</p> <p>Etude observationnelle 1 mois après arrêt de l'exposition à la plus forte dose</p> <p>Rats Fischer 344</p> <p>20/sexe/groupe</p> <p>(+10 /sexe pour l'étude</p> | <p>Augmentation du poids absolu et relatif (au cerveau) des poumons chez les mâles et les femelles à la plus haute dose. Après l'arrêt du traitement, cette augmentation n'est plus visible que chez les femelles. Augmentation de l'accumulation de macrophages alvéolaires chez les mâles et les femelles aux deux plus fortes doses. Augmentation de l'incidence et de la sévérité de l'inflammation interstitielle dans les deux sexes à 3518 mg.m⁻³. Effets toujours présents après l'arrêt de l'exposition.</p> <p>Augmentation dose dépendante du poids</p> |

| | | | |
|---------------------------|-------------------------------------|--|---|
| | | observationnelle) | <p>absolu et relatif du foie chez les femelles, non visible après arrêt de l'exposition.</p> <p>Augmentation de l'activité de la γ glutamyltransférase à la plus haute dose chez les mâles et dose dépendante chez les femelles (toujours observé après récupération chez ces dernières). Une diminution du cholestérol est également visible chez les mâles, mais pas chez les femelles. Diminution de l'urée sérique chez les femelles aux deux plus fortes doses. Aucune lésion histopathologique n'a été observée dans cet organe.</p> <p>Augmentation de l'incidence des hyperplasies de la glande interstitielle de l'ovaire.</p> <p>Mucification vaginale et atrophie vaginale à la plus haute dose.</p> |
| Chronique/cancérogène | | | |
| Jean <i>et al.</i> , 2015 | EPA OPPTS 870.4300 Oui | <p>Couplée chronique/cancéro, 0 ; 9,76-9,79 ; 39,37-39,45 ; 158,38-158,61 ppm (0 ; 148 ; 596 ; 2395 mg.m⁻³), vapeurs corps entier</p> <p>Sous-groupes d'exposition :</p> <p>A : 6 mois B : 12 mois C : 12 mois + 12 mois d'observation D : 24 mois</p> <p>Rats Fischer 344 92/sexe/groupe</p> | <p>Augmentation du poids du foie chez les femelles exposées 6 et 12 mois à 148 et 2395 mg.m⁻³, et chez les mâles exposés 24 mois à 2395 mg.m⁻³. Chez les femelles, diminution de la concentration en urée à 3 et 12 mois, augmentation du cholestérol à 3, 6, et 12 mois, des triglycérides à 12 mois, des protéines totales à 3 et 6 mois et de la γ-glutamyl transférase à 3 et 12 mois. Chez les mâles à 12 mois, diminution des ASAT, et augmentation de l'albumine.</p> <p>Augmentation des adénocarcinomes de l'endomètre utérin chez les femelles à la plus haute dose après 2 ans d'exposition.</p> <p>Augmentation de l'hémoglobine et de l'hématocrite à la plus forte dose chez les femelles et augmentation du volume corpusculaire moyen chez les mâles à la plus forte dose.</p> <p>Augmentation de l'incidence de foyers pulmonaires (+13%) chez les femelles du sous-groupe D à 2395 mg.m⁻³. Augmentation des inclusions hyalines dans l'épithélium de la cavité nasale chez les deux sexes du sous-groupe A et D à 2395 mg.m⁻³ et uniquement les femelles du sous-groupe B. Toujours</p> |

| | | | |
|----------------------------|------------------------------|--|--|
| | | | observables après la période de récupération (sous-groupe C) chez les deux sexes à la plus haute dose. |
| Orale | | | |
| 14 jours | | | |
| ECHA, 2015 ; SCCS, 2015 | OCDE 407 Oui | 0 ; 25 ; 100 ; 400 et 1600 mg/kg Gavage Rats Sprague-Dawley 8/sexe/groupe | Augmentation statistiquement significative du poids absolu et relatif du foie chez les femelles à partir 100 mg/kg |
| 28 jours | | | |
| ECHA, 2015 ; SCCS, 2015 | OCDE 407 Oui | 0 ; 1500 mg/kg Gavage Rats Sprague Dawley 6/sexe | Augmentation du poids absolu du foie chez les femelles à 1500 mg/kg |
| 90 jours | | | |
| ECHA, 2015 ; SCCS, 2015 | OCDE 408 Oui | 100 ; 330 ; 1000 mg/kg Gavage Rats Wistar 10/sexe/groupe | Augmentation du poids absolu du foie à toutes les doses chez les femelles. Augmentation du poids relatif du foie chez les mâles et les femelles à toutes les doses. Modification cytoplasmique des hépatocytes chez plusieurs animaux à 1000 mg/kg. Présence de nodules dans le parenchyme pulmonaire : chez une femelle à 100 mg/kg, 8 mâles et 6 femelles à 330 mg/kg, et 6 mâles et 6 femelles à 1000 mg/kg. Pneumonie granulomateuse chez 9 mâles et 7 femelles à 330 mg/kg, et 8 mâles et 7 femelles à 1000 mg/kg. Hypertrophie des cellules à mucus chez les femelles à partir de 100 mg/kg. Diminution hémoglobine à 1000 mg/kg chez les mâles et les femelles. |
| Cutanée | | | |
| ECHA, 2015 ; SCCS, 2015 | Equivalent à OCDE 410 Non | 21 jours, occlusif 0 ; 1000 mg/kg, 7 jours/semaine (surface : 10x10 cm) Lapins Néo-Zélandais | Aucune observation |

| | | 6/sexe | |
|----------------------------|------------------------------|--|--------------------|
| ECHA, 2015 ; SCCS, 2015 | OCDE 410 Oui | 21 jours 0 ; 96 ; 288 ; 960 mg/kg 5 jours/semaine Lapins Néo-Zélandais ♀♂ | Aucune observation |
| ECHA, 2015 ; SCCS, 2015 | Equivalent à OCDE 410 Oui | 28 jours, occlusif 0 ; 200 ; 800 ; 1600 mg/kg, 6 heures/jour, 7 jours/semaine (surface : 10% de la surface corporelle) Etude observationnelle 14 jours après arrêt de l'exposition Rats Sprague-Dawley 10 sexe/groupe + 5/sexe (0 et 1600 mg/kg) | Aucune observation |

3.5.1 Données chez l'Homme

Aucune donnée n'est disponible pour la toxicité chronique chez l'Homme.

3.5.2 Données chez l'animal

3.5.2.1 Effets respiratoires

Des effets respiratoires sont observés dans la majorité des études par inhalation du D5.

Une première étude publiée de 28 jours par inhalation corps entier sur des rats Fischer 344 est disponible (Burns-Naas *et al.*, 1998a). Les animaux ont été exposés 6 heures par jour, 7 jours par semaine à des vapeurs de D5 aux concentrations de 0, 154, 384, 1153, et 2461 mg.m⁻³. Quinze animaux par sexe et par groupe ont été utilisés. Dix ont été euthanasiés le lendemain de la dernière administration, et 5 ont été utilisés pour tester la réversibilité des effets suite à une période de récupération de 14 jours.

Il est observé une augmentation statistiquement significative du poids des poumons chez les mâles à 2466 mg.m⁻³ (+15%). Cette augmentation apparaît réversible après la période de récupération. Aucune lésion macroscopique liée au traitement au D5 n'a été observée, à la fin de l'exposition comme après la période de récupération. Au niveau de la sphère respiratoire, sont retrouvées une augmentation de l'incidence de la prolifération des cellules à mucus dans le niveau 1 de la cavité nasale (partie antérieure) chez les deux sexes à 154, 1153, 2461 mg.m⁻³, une augmentation de l'incidence de l'inflammation submucosale chez les mâles à 1153 mg.m⁻³ et les femelles à 2461 mg.m⁻³. Après la période de récupération, l'inflammation est totalement réversible

alors que la prolifération de cellules à mucus ne l'est totalement que chez les mâles (effet présent chez 3 femelles sur 5). En plus de ces effets sur la cavité nasale, il est observé une augmentation de l'accumulation des macrophages alvéolaires, plus prononcée chez les mâles que chez les femelles, et une légère augmentation de l'inflammation interstitielle à 2461 mg.m⁻³. Seule l'accumulation de macrophages chez les mâles ne paraît pas réversible. Les auteurs n'ont pas réalisé de tests statistiques sur ces données pour évaluer leur significativité.

Une étude subchronique par inhalation nez seul sur des rats Fischer 344 est également disponible dans la littérature (Burns-Naas *et al.*, 1998b). Les animaux ont été exposés, 6 heures par jour, 5 jours par semaine, à des doses de 0, 432, 743, 1324, et 3518 mg.m⁻³. Le D5 est sous forme de vapeurs à toutes les doses, sauf la plus élevée, où il s'agit d'un mélange vapeur/aérosol (40% d'aérosol). Vingt animaux par sexe et par groupe ont été utilisés, et 10 animaux par sexe supplémentaires ont été utilisés dans le groupe contrôle et le groupe exposé à 3518 mg.m⁻³ pour évaluer la réversibilité des effets après une période de récupération d'un mois.

Il est observé une augmentation statistiquement significative du poids absolu et relatif des poumons chez les mâles (12 et 13%) et les femelles (16 et 19%) à 3518 mg.m⁻³. Cet effet est toujours observé chez les femelles après la période de récupération (7-8%). Comme dans l'étude précédente, aucune autre étude statistique des effets observés n'a été réalisée. Des lésions macroscopiques sont observées dans les poumons sous la forme de multiples foyers blanc-gris. Il est observé une augmentation de l'incidence de l'accumulation de macrophages alvéolaires chez les mâles et les femelles à 1324 et 3518 mg.m⁻³. Il est également observé une augmentation de la sévérité de ces lésions chez les deux sexes à 3518 mg.m⁻³. Une augmentation de l'incidence et de la sévérité de l'inflammation interstitielle est observée chez les deux sexes à 3518 mg.m⁻³. Ces deux effets ne sont pas réversibles après la période de récupération d'un mois.

Dans une étude 2 générations (Siddiqui *et al.* décrite dans le chapitre concerné, cf. 3.8.2), concernant les données histopathologiques, une augmentation statistiquement significative de l'incidence des histiocytoses alvéolaires minimes chez les femelles F0 et F1 à la plus haute dose a été observée, ainsi qu'une augmentation non significative chez les mâles de la génération F1. Une augmentation de la minéralisation vasculaire pulmonaire a également été observées chez tous les animaux des générations F0 et F1 :

Tableau 12 : Observations histopathologiques

| | Groupe d'exposition (mg.m ⁻³) | | | |
|--------------------------------------|---|--------|--------|--------|
| | Contrôle | 468 | 1072 | 2446 |
| Histiocytose alvéolaire minimale | | | | |
| F ₀ mâles | 5/30 | 5/29 | 7/30 | 6/28 |
| F ₀ femelles | 0/30 | 5/29 | 4/29 | 10/29* |
| F ₁ mâles | 2/30 | 4/30 | 6/30 | 7/30 |
| F ₁ femelles | 3/30 | 10/30 | 8/30 | 13/30* |
| Minéralisation vasculaire pulmonaire | | | | |
| F ₀ mâles | 13/30 | 17/29 | 23/30* | 4/28 |
| F ₀ femelles | 7/30 | 20/29* | 22/29* | 10/29 |
| F ₁ mâles | 6/30 | 28/30* | 27/30* | 16/30* |
| F ₁ femelles | 13/30 | 22/30 | 24/30* | 4/30 |

* $p < 0,05$, en comparaison des valeurs contrôles, au test de Kolmogorov-Smirnov

Cependant, pour ces deux derniers effets, aucune relation dose réponse n'a été mise en évidence, aussi bien pour l'incidence que pour la sévérité.

D'autres études rapportent des effets sur les voies respiratoires, mais ne sont pas publiées.

Une étude subaiguë par inhalation nez seul est disponible. Cette étude n'est pas publiée (ECHA, 2015 ; SCCS, 2015). Des rats Fischer 344 ont été exposés, 6 heures par jours, 5 jours par semaine, aux doses analytiques de 0, 423, 634, 1465, 2280/2975 mg.m⁻³. La dose maximale a été choisie pour générer un effet toxique. Aucun signe de toxicité n'ayant été observé après 6 expositions (11^{ème} jour), les auteurs ont augmenté cette dose en cours d'étude. Le D5 est sous forme de vapeur pour toutes les doses, sauf la plus élevée, où il s'agit d'un mélange vapeur/aérosol (40% d'aérosol). Dix animaux par sexe et par groupe ont été utilisés.

Aucune lésion macroscopique n'est observée dans cette étude. Une augmentation de la prolifération des cellules à mucus à tous les niveaux de la cavité nasale et dans le conduit du nasopharynx à la plus forte dose chez les deux sexes a été rapportée. Cette augmentation de l'incidence est également associée à une augmentation de la sévérité des lésions. Une augmentation de l'incidence des inflammations interstitielles chez les deux sexes est également rapportée, uniquement à la plus forte dose.

Une étude 28 jours par inhalation corps entier a été réalisée sur des rats Wistar (ECHA, 2015 ; SCCS, 2015). Cette étude n'est pas publiée. Dix animaux par sexe et par groupe ont été exposés 6 heures par jour, 5 jours par semaine à des concentrations de 0, 81, 431, 1998 mg.m⁻³ Cinq

animaux par sexe supplémentaires ont été utilisés dans le groupe témoin et le groupe 1998 mg.m⁻³ afin d'étudier la réversibilité des effets après une période de récupération de 14 jours.

De légers infiltrats leucocytaires périvasculaires et péribronchiolaires sont rapportés à la plus haute dose chez 7 mâles sur 10, et 6 femelles sur 10, et disparaissent après la période de récupération. Aucune augmentation du poids des poumons ou lésion macroscopique ne sont rapportées.

Une étude subchronique est également disponible. Deux groupes de rats Sprague-Dawley ont été exposés par inhalation corps entier à 0 et 1797 mg.m⁻³ de vapeurs de D5, 6 heures par jour, 7 jours par semaine pendant 28 jours. Quatre autres groupes ont été exposés de la même façon à 0, 302, 891, et 1797 mg.m⁻³ de D5 pendant 90 jours. Enfin, deux derniers groupes ont été exposés à 0 et 1797 mg.m⁻³ de D5 pendant 90 jours, puis ont été gardés 28 jours pour observer la réversibilité des effets. Tous ces groupes comptaient 10 animaux par sexe (ECHA, 2015 ; SCCS, 2015).

Dans cette étude, mis à part 2 femelles présentant une histiocytose alvéolaire à 891 et 1797 mg.m⁻³ à 90 jours, aucun autre effet n'est observé concernant la sphère respiratoire.

Dans l'étude combinée toxicité chronique/cancérogénicité par inhalation décrite dans la partie concernée (Jean *et al.*, 2015, cf. 3.7), une augmentation statistiquement significative de l'incidence de foyers pulmonaires (+13%) chez les femelles du sous-groupe D à 2395 mg.m⁻³ a été rapportée. Une augmentation statistiquement significative des inclusions hyalines dans l'épithélium de la cavité nasale a été observée chez les deux sexes du sous-groupe A et D à 2395 mg.m⁻³ et uniquement les femelles du sous-groupe B. Ces inclusions étaient toujours observables après la période de récupération (sous-groupe C) chez les deux sexes à la plus haute dose. Cependant, cet effet est considéré par les auteurs comme un effet non spécifique, lié à l'exposition, cohérent avec l'exposition chronique à un composé moyennement irritant. En outre, cet effet est commun chez les rats âgés.

Dans une étude subchronique par voie orale non publiée (ECHA, 2015 ; SCCS, 2015), des rats Wistar, mâles et femelles, ont reçu par gavage des doses de 100, 330 et 1000 mg/kg pc/j de D5. Dix animaux par sexe et par dose ont été utilisés. Des nodules dans le parenchyme pulmonaire sont rapportés : chez une femelle à 100 mg/kg, 8 mâles et 6 femelles à 330 mg/kg, et 6 mâles et 6 femelles à 1000 mg/kg. Au niveau microscopique, il est également observé une pneumonie granulomateuse chez 9 mâles et 7 femelles à 330 mg/kg, et 8 mâles et 7 femelles à 1000 mg/kg. Enfin, une hypertrophie des cellules à mucus chez les femelles à partir de 100 mg/kg est également visible. Selon les auteurs, ces effets seraient la conséquence d'une exposition involontaire par inhalation au D5 (due à la méthode d'administration) plutôt qu'à un effet systémique suite à l'ingestion.

3.5.2.2 Effets hématologiques/immunologiques

Des modifications dans les paramètres hématologiques sont décrites dans de nombreuses études suite à une exposition au D5.

L'étude de 28 jours de Burns-Naas *et al.* décrite précédemment (1998a) met en évidence une diminution, chez les femelles, à 2461 mg.m⁻³, des hématies, de l'hémoglobine, et de l'hématocrite

(- 5-6%). Ces valeurs, bien qu'elles soient statistiquement significatives, restent néanmoins dans les valeurs normales de l'hémogramme du rat (Descat, 2002). Ces effets sont réversibles après une période de récupération de 14 jours. Aucun effet n'a été observé chez les mâles dans cette étude.

Dans l'étude de 90 jours de Burns-Naas *et al.* décrite précédemment (1998b), une diminution de l'hémoglobine (-4%) et une augmentation de volume globulaire moyen (VGM) (+2%) est observée chez les femelles à 3518 mg.m⁻³. Une diminution de la CCMH est observée à 3518 mg.m⁻³ chez les deux sexes (-2% chez les mâles et -3% chez les femelles). Comme précédemment, même si ces modifications sont statistiquement significatives, elles restent dans les limites physiologiques de l'hémogramme, mis à part la CCMH. Ces variations sont réversibles après une période de récupération de 4 semaines.

D'autres études non publiées rapportent également des effets hématologiques.

Dans une étude par exposition subaiguë décrite précédemment (ECHA, 2015 ; SCCS, 2015), sont observés plusieurs changements statistiquement significatifs, dont une augmentation du nombre de leucocytes totaux et des lymphocytes chez les mâles aux deux plus fortes doses (1465 et 2280/2975 mg.m⁻³). Le VGM est augmenté à 2280/2975 mg.m⁻³ chez les deux sexes. Enfin, la CCMH est diminuée chez les femelles à 2280/2975 mg.m⁻³.

Dans une autre étude par exposition subaiguë décrite précédemment (ECHA, 2015 ; SCCS, 2015), une augmentation du VGM et une diminution de la CCMH est observée à 431 mg.m⁻³ et 1998 mg.m⁻³ chez les mâles. Le nombre de leucocytes totaux et de neutrophiles chez les mâles aux mêmes doses est également augmenté. Dans cette étude, il est également observé une diminution du nombre d'hématies à 1998 mg.m⁻³. Ces modifications statistiquement significatives des paramètres hématologiques sont réversibles après une période de récupération de 14 jours.

Dans l'étude combinée toxicité chronique/cancérogénicité (Jean *et al.*, 2015), les seules observations statistiquement significatives à 12 mois (dernière analyse des paramètres hématologiques) sont une augmentation de l'hémoglobine (+3,2%) et de l'hématocrite (+2,2%) à 2395 mg.m⁻³ chez les mâles et une augmentation du VGM chez les femelles (1,3%) à 2395 mg.m⁻³.

Une autre étude subchronique par inhalation n'a quant à elle démontré aucune modification pertinente des paramètres hématologiques (ECHA, 2015 ; SCCS, 2015).

Dans l'étude subchronique par voie orale décrite précédemment (ECHA, 2015 ; SCCS, 2015), une diminution de la concentration en hémoglobine est observée à la dose de 1000 mg/kg.

Un effet immunotoxique a été envisagé pour le D5, notamment en regard des augmentations de leucocytes observées dans certaines études, et de l'activité d'adjuvant humoral démontré pour certaines silicones (Naim *et al.*, 1997).

Dans l'étude de Burns-Naas *et al.* (1998a) les chercheurs ont également évalué la réponse des cellules productrices d'anticorps suite à l'exposition au D5 et une injection par voie intraveineuse d'érythrocytes de mouton au 25^{ème} jour. De légères mais constantes augmentations sont observées pour le poids de la rate, le nombre de cellules productrices d'anticorps (AFC,

« Antibody-Forming Cell ») par rapport à la rate ou au nombre de splénocytes. Cependant, ces augmentations ne sont pas statistiquement significatives au test de Dunnett.

Une étude *in vitro* non publiée a analysé l'effet de D5 sur la prolifération de cellules mononuclées humaines du sang périphérique. Cette stimulation a été induite par trois composés : la phytohémagglutinine, l'anatoxine tétanique ou des allo-antigènes. Il apparaît que dans un milieu sans sérum, le D5 inhibe complètement l'induction de prolifération des cellules immunitaires par ces trois composés. Cependant, ces effets sont complètement supprimés lorsque le D5 est utilisé en présence de sérum. Il apparaît dans cette étude que les facteurs protecteurs du sérum sont les lipoprotéines. Cet effet n'apparaît donc pas pertinent dans les conditions d'exposition classiques, d'autant que les concentrations utilisées sont bien plus élevées que celles relevées dans le sang lors d'exposition (ECHA, 2015 ; SCCS, 2015).

3.5.2.3 Effets hépatiques

Dans l'étude en exposition subchronique de Burns-Naas *et al.* décrite précédemment (1998b), plusieurs modifications de paramètres sont associées à l'augmentation statistiquement significative du poids du foie observée chez les femelles à 743 et 3518 mg.m⁻³ (+15% et +16%). Il est observé une augmentation statistiquement significative de l'activité de la gamma-glutamyltransférase (γ -GT), à 3518 mg.m⁻³ chez les mâles (+58%) et dose dépendante chez les femelles (de +57 à +379%). Dans cette étude, une diminution du cholestérol dans tous les groupes exposés est également observée chez les mâles (-10/18%). Une diminution de l'urée sérique est observée chez les femelles à 324 et 3518 mg.m⁻³. Tous ces paramètres apparaissent réversibles après une période de récupération d'un mois, sauf l'augmentation de la γ -GT chez les femelles (+82%).

Dans l'étude en exposition subaiguë décrite précédemment (Burns-Naas *et al.*, 1998a), l'augmentation statistiquement significative du poids du foie chez les femelles à 2461 mg.m⁻³ (+15%) n'est seulement associée qu'à une diminution de la phosphatase alcaline (12%) chez les femelles à 2461 mg.m⁻³. Si l'augmentation du poids du foie apparaît réversible après 14 jours, la diminution de la phosphatase alcaline, elle, ne l'est pas.

Dans l'étude 2 générations décrite dans le chapitre concerné (cf. 3.8.2), une augmentation statistiquement significative du poids absolu (mais pas relatif) du foie a été observée chez les femelles de la génération F0 à 2446 mg.m⁻³. Cependant, cette observation n'a pas été confirmée à la génération F1 (Siddiqui *et al.*, 2007).

D'autres études non publiées rapportent des effets hépatiques.

Dans une étude par exposition subaiguë décrite précédemment (ECHA, 2015 ; SCCS, 2015), associé à l'augmentation statistiquement significative du poids (absolu et relatif) du foie chez les femelles à la plus haute dose, il est observé une augmentation des hypertrophies hépatocellulaires chez six femelles sur 10 à la plus forte dose (2280/2975 mg.m⁻³).

Dans une étude 28 jours par inhalation corps entier, des rats femelles Fischer 344 ont été exposées à 0 ou 2416 mg.m⁻³ de vapeur de D5. Dix animaux par groupe ont été exposés 6 heures par jours, 5 jours par semaine. Des animaux ont été sacrifiés aux 6^{ème} et 13^{ème} jours de l'étude. Il

est observé une hypertrophie centrolobulaire transitoire (uniquement au 6^{ème} jour) ainsi qu'une hyperplasie hépatocellulaire au 6^{ème} jour et à la fin de l'étude (ECHA, 2015 ; SCCS, 2015).

Dans l'étude par inhalation 28 jours décrite précédemment (ECHA, 2015 ; SCCS, 2015), l'augmentation statistiquement significative relative du poids du foie à la plus forte dose (1998 mg.m⁻³) observée chez les deux sexes est associée à une diminution de la bilirubine chez les mâles à cette même dose. Ces deux paramètres étaient revenus à des niveaux similaires à ceux du groupe contrôle après une période de récupération.

Dans l'étude subchronique par voie orale décrite précédemment (ECHA, 2015 ; SCCS, 2015) des modifications cytoplasmiques des hépatocytes sont observées chez plusieurs animaux à 1000 mg/kg. Selon les auteurs, ces observations seraient le signe d'un effet adaptatif du foie.

Enfin dans l'étude combinée toxicité chronique/cancérogénicité réalisée sur le D5 (Jean *et al.*, 2015), une augmentation statistiquement significative du poids absolu et relatif du foie chez les femelles à un an a été observée (+10,9 et +9,9%), et du poids relatif chez les mâles à 2 ans (+8,9%). Les autres effets statistiquement significatifs observés sont : une augmentation du cholestérol total chez les femelles à 596 mg.m⁻³ (+8%) et 2395 mg.m⁻³ (+14,1%) après 12 mois, une augmentation des triglycérides, toujours chez les femelles à 2395 mg.m⁻³ après 12 mois (+25%), ainsi qu'une augmentation de la γ -GT chez les femelles à 2395 mg.m⁻³ après 12 mois (+132,8%). Pour les auteurs, ces modifications reflètent un effet adaptatif du foie.

3.6 Génotoxicité

Le D5 n'a pas montré de potentiel génotoxique dans les différents essais réalisés, *in vitro* ou *in vivo*. Ces essais sont résumés dans les tableaux ci-dessous :

Tableau 13 : Résumé des études de génotoxicité *in vitro*

| Référence | Type d'essai | Ligne directrice | BPL | Activation métabolique | Souche | Conclusion |
|-------------------------|--------------------------|------------------|-----|------------------------|---|-----------------|
| ECHA, 2015 ; SCCS, 2015 | Test d'Ames | OCDE 471 | Oui | Oui | <i>S. typhimurium</i> TA 1535, TA 1537, TA 98 et TA 100, <i>E. coli</i> WP2 uvr A | Non génotoxique |
| | Aberration chromosomique | OCDE 473 | Oui | Oui | Fibroblaste de poumons de hamster chinois | Non génotoxique |

| | | | | | | |
|--|--|----------|-----|-----|-----------------------------------|-----------------|
| | | | | | (V79) | |
| | Essai de mutation génique sur cellules de mammifères | OCDE 476 | Non | Oui | Cellules L5178Y de lymphome murin | Non génotoxique |

Tableau 14 : Résumé des études de génotoxicité *in vivo*

| Référence | Type d'essai | Ligne directrice | BPL | Espèce | Conclusion |
|----------------------------|-------------------------------|------------------|-----|-----------------|-----------------|
| ECHA, 2015 ; SCCS, 2015 | Essai du micronoyau | OCDE 474 | Oui | Rat Fischer 344 | Non génotoxique |
| | Synthèse d'ADN non programmée | OCDE 486 | Oui | Rat Fischer 344 | Non génotoxique |

3.7 Cancérogénicité

3.7.1 Données chez l'Homme

Aucune donnée n'est disponible concernant la cancérogénicité chez l'Homme.

3.7.2 Données chez l'animal

Une étude par inhalation corps entier couplée toxicité chronique/cancérogénicité, selon les lignes directrices de l'EPA est disponible pour le D5 (Jean *et al.*, 2015).

Des rats Fischer 344/CrlBr ont été répartis en 4 groupes (192 animaux par groupes, pour un total de 768 animaux), exposés à des doses de 148, 596, 2395 mg.m⁻³. Les animaux ont été exposés 6 heures par jour, 5 jours par semaine. Chaque groupe a été divisé en 4 sous-groupes :

- Sous-groupe A : 6 mâles + 6 femelles par dose, exposés pendant 6 mois puis sacrifiés ;
- Sous-groupe B : 10 mâles + 10 femelles par dose, exposés pendant 12 mois puis sacrifiés ;
- Sous-groupe C : 20 mâles + 20 femelles par dose, exposés pendant 12 mois puis sacrifiés au bout de 24 mois ;
- Sous-groupe D : 60 mâles + 60 femelles par dose, exposés pendant 24 mois puis sacrifiés.

Un certain nombre de lésions néoplasiques ont été observées dans cette étude. Le seul effet néoplasique statistiquement significatif (tests de tendance, test de Fisher) observé dans cette étude est l'incidence d'adénocarcinomes de l'endomètre utérin à la plus forte dose dans le sous-groupe D (8,3%). Cependant, aucune relation dose-réponse ne peut être identifiée. Aucun néoplasme n'est observé dans le groupe contrôle du sous-groupe D, alors que c'est le cas dans le sous-groupe C, l'incidence de néoplasmes étant de 5% (voir Tableau 16).

Tableau 15 : Incidence des adénocarcinomes de l'endomètre utérin

| <i>Exposition (mg.m⁻³)</i> | <i>Sous-groupe D</i> | <i>%</i> | <i>Sous-groupe C</i> | <i>%</i> |
|---------------------------------------|----------------------|----------|----------------------|----------|
| 0 | 0/60 | 0 | 1/20 | 5 |
| 148 | 1/60 | 1,67 | 1/20 | 5 |
| 596 | 0/60 | 0 | 0/20 | 0 |
| 2395 | 5/60 | 8,3 | 2/20 | 10 |

Considérant le caractère équivoque des résultats obtenus et leur faible force statistique, les auteurs ont analysé les résultats des témoins historiques pour l'incidence des adénocarcinomes de l'endomètre utérin :

Tableau 16 : Comparaison de l'incidence d'adénocarcinomes utérin dans l'étude de cancérogénicité avec les incidences retrouvées chez les témoins historiques

| <i>Référence</i> | <i>Age rats (mois)</i> | <i>lignée</i> | <i>Incidence %</i> |
|---------------------------|------------------------|---------------|--------------------|
| Jean <i>et al.</i> , 2015 | 24 | CrIBr | 8,3 |
| Jean <i>et al.</i> , 2015 | 24 | CrIBr | 0 |
| Jean <i>et al.</i> , 2015 | 12 | CrIBr | 5 |
| Haseman, 1998 | 24 | N | 0 |
| Maekawa, 1983 | 24 | DuCrj | 1 |
| Nyska, 1994 | 30 | CrIBr | 13,3 |
| Nyska, 1994 | 30 | CrIBr | 24 |
| Rao, 1990 | ? | N | 11 |
| Kuroiwa, 2013 | 24 | DuCrICrj | 3,3 |
| Kuroiwa, 2013 | 24 | DuCrICrj | 12 |

| | | | |
|---------------------|----|-----------|------|
| Kuroiwa, 2013 | 24 | DuCrIcRlj | 13,5 |
| Charles River, 1990 | 24 | CrIbR | 8 |

Pour les auteurs, l'incidence des adénocarcinomes de l'endomètre utérin retrouvée chez les témoins historiques montre une variabilité d'apparition spontanée de ces d'adénocarcinomes chez le rat Fischer 344. Plus particulièrement, ils estiment que l'absence d'adénocarcinomes spontanés observée dans cette étude n'est pas représentative de ce qui est retrouvé classiquement avec cette lignée CrIbR (Klaunig *et al.*, 2015).

Cependant, en regardant les résultats obtenus chez les témoins dans une étude chronique réalisée pour l'évaluation du D4, utilisant le même protocole et la même lignée de rats, il apparaît que ceux-ci sont également tous négatifs pour l'apparition d'adénocarcinomes de l'endomètre utérin (SCCS, 2010).

3.8 Effets sur la reproduction et le développement

3.8.1 Données chez l'Homme

Aucune donnée chez l'Homme n'est disponible concernant les effets sur le développement ou la reproduction.

3.8.2 Données chez l'animal

Les études disponibles sur la reproduction et le développement sont résumées dans le tableau suivant :

Tableau 17 : Résumé des études sur la reproduction

| Référence | Lignes directrices BPL | Protocole | Résultats |
|-------------------------------|-------------------------------|---|---|
| ECHA, 2015 ; SCCS, 2015 | / Oui | Etude préliminaire sur la reproduction. 0 ; 26 ; 132 ppm (0 ; 393 ; 1993 mg.m ⁻³), vapeurs, corps entier Rats Sprague Dawley (22/sexe/groupe) | Diminution de l'indice de viabilité à 14 et 21 jours après la naissance à la plus forte dose. |
| Siddiqui <i>et al.</i> , 2007 | USEPA OPPTS 870.3800 et | Etude deux générations. 0 ; 31 ; 71 ; 162 ppm (0 ; 468 ; 1072 ; 2446 mg.m ⁻³), | Augmentation de la distance ano-génitale (absolue et relative à la racine cubique du poids corporel) chez les mâles F1 à PND1 à |

| | | | |
|--|---------------------|--|---|
| | EPA OPP 83-6 Oui | corps entier 6h/jours, 70 jours avant le regroupement des animaux jusqu'à PND21 (F0 et F1). Arrêt entre G21 et PND4 (F0) et G20 et PND5 (F1) Rats Sprague Dawley (30/sexe/groupe) | 2496 mg.m ⁻³ . Augmentation de l'incidence des histiocytoses alvéolaires chez les femelles (F0 et F1) à 2496 mg.m ⁻³ . Augmentation de la minéralisation vasculaire pulmonaire chez les mâles F1 à 478, 1094, 2496 mg.m ⁻³ , les F0 femelles à 478, 1094 mg.m ⁻³ et chez les F0 mâles et les F1 femelles à 1094 mg.m ⁻³ . |
|--|---------------------|--|---|

Une étude 2 générations publiée est disponible pour le D5. Elle a été réalisée par inhalation corps entier, et est conforme aux lignes directrices de l'EPA (Siddiqui *et al.*, 2007). Trente rats par sexe et par groupe ont été exposés à des concentrations cibles de 0, 468, 1072 et 2446 mg.m⁻³, ainsi qu'à de l'air filtré pour le groupe contrôle. L'exposition a été réalisée 6 heures par jour, au moins pendant 70 jours consécutifs avant le regroupement des animaux, et a continué tout au long de l'accouplement, la gestation, la lactation jusqu'au jour précédent l'euthanasie (à la suite du sevrage des petits 21 jours après la naissance (Post Natal Day, PND21)). Cette exposition a cependant été suspendue du 21^{ème} jour de gestation au 4^{ème} jour après la naissance. Chez la génération F1, l'exposition a débuté 22 jours après la naissance, pendant au moins 70 jours consécutifs avant le regroupement et l'accouplement des animaux. Tout comme la génération F0, l'exposition a continué jusqu'au 21^{ème} jour suivant la naissance de la génération F2, avec un arrêt entre le 20^{ème} jour de gestation et le 5^{ème} jour de lactation.

Le seul effet statistiquement significatif concernant les aspects de reproduction et de développement observés dans cette étude est une légère, mais statistiquement significative augmentation de la distance ano-génitale (absolue et relative à la racine cubique du poids corporel) chez les mâles de la génération F1 à PND1 exposés à 2446 mg.m⁻³. Cet effet n'est pas observé chez les femelles ni chez les petits de la génération F2.

Une étude préliminaire non publiée sur 2 générations est disponible pour le D5. Les rats Sprague-Dawley (22 femelles et 22 mâles par groupes) ont été exposés à 0, 393 et 1993 mg.m⁻³ de D5, 6 heures par jours, 28 jours avant l'accouplement et jusqu'à leur mort, avec un arrêt entre le 21^{ème} jour de gestation et le 4^{ème} de lactation. Cette étude ne suit pas de ligne directrice.

Le seul effet statistiquement significatif rapporté est une diminution de l'indice de viabilité à 14 et 21 jours après la naissance à la plus forte dose. Cet indice reste malgré tout dans les normes des témoins historiques. Aucun autre effet n'a été observé dans cette étude, dans les deux générations (ECHA, 2015 ; SCCS, 2015).

3.9 Mécanismes d'action

3.9.1 Effets hépatiques

Des études ont été réalisées pour identifier le mode d'action du D5 concernant les effets hépatiques. L'hypothèse d'un effet « phenobarbital-like » a été émise, et testée.

Dans une étude mécaniste étudiant l'induction d'enzymes hépatiques, des rats Sprague-Dawley (mâles et femelles, 3-4 animaux par groupe) ont été exposés par gavage à des doses de 0, 1, 5, 20 ou 100 mg/kg de D5, dissous dans de l'huile de maïs, ou à 50 mg/kg de phénobarbital par voie intraveineuse (Zhang *et al.*, 2000).

L'induction du CYP1A1/2 a été déterminée par la mesure de la 7-éthoxyrésorufine O-dééthylase microsomale (EROD) et de la protéine immunoréactive CYP1A1/2, et l'induction du CYP2B1/2 par la mesure de la 7-pentoxyrésorufine O-dépentylase microsomale (PROD) et de la protéine immunoréactive CYP2B1/2. Les niveaux de la protéine immunoréactive CYP3A1/2 et les modifications du NADPH cytochrome P450 ont également été mesurés.

Les résultats pour PROD et EROD sont résumés dans le tableau suivant :

Tableau 18 : Activités des enzymes PROD et EROD

| Dose (mg/kg) | PROD (pmol/min par mg) | | EROD (pmol/min par mg) | |
|------------------|------------------------|--------------|------------------------|--------------|
| | Mâles | Femelles | Mâles | Femelles |
| 0 | 12,7 ± 1,9 | 1,6 ± 0,5 | 47,4 ± 9,8 | 36,8 ± 6,2 |
| 1 | 19,4 ± 5,8 | 1,9 ± 0,1 | 44,9 ± 9,6 | 41,3 ± 10,7 |
| 5 | 37,8 ± 16,6 | 2,8 ± 0,2* | 126 ± 48,4* | 48,3 ± 5,1* |
| 20 | 69,1 ± 26,7* | 10,7 ± 4,8 * | 114 ± 36,2* | 63,2 ± 18,5* |
| 100 | 99,4 ± 25,9* | 10,4 ± 5,1* | 141 ± 9,8* | 51,8 ± 7,2* |
| Phénobarbital 50 | 1053 ± 60,4* | 172 ± 59,1* | 222 ± 8,5* | 109 ± 6,4* |

* Différence significative du contrôle à $p < 0.05$ (Test de Dunnett)

L'augmentation de l'activité de EROD n'est pas liée à une augmentation du niveau de protéine immunoréactive CYP1A1/2, qui n'est pas affectée par le traitement au D5. Au contraire, le niveau de protéine immunoréactive CYP2B1/2 augmente de façon similaire à PROD. Une étude *in vitro* sur des microsomes humains et de rats a confirmé que le D5 avait la capacité d'inhiber de façon réversible et métabolisme-dépendante le CYP1A1/2, mais que ce n'était pas un inhibiteur de CYP2B1/2 (ECHA, 2015 ; SCCS, 2015). Une augmentation significative a été observée pour la protéine immunoréactive CYP3A1/2 chez les mâles traités avec 100 mg/kg de D5. Chez les

femelles, une augmentation dose dépendante est observée dès 5 mg/kg. La protéine immunoréactive NADPH cytochrome P450 réductase est également significativement augmentée chez les mâles et les femelles traités aux doses de 5 et 100 mg/kg et 20 et 100 mg/kg, respectivement. Cette étude indique que le D5 a une action sur le foie de façon similaire au phénobarbital quoique moins forte (Zhang *et al.*, 2000).

3.9.2 Cancérogénicité

En premier lieu, une revue indépendante des données histopathologiques disponibles dans la base de données du NTP a été réalisée pour déterminer si la morphologie des tumeurs spontanées observées chez les femelles Fischer 344 est similaire à celle observée dans l'étude sur le D5. Cette évaluation a mené à la conclusion que les tumeurs induites par le D5 étaient indifférenciables des adénocarcinomes retrouvés chez les animaux contrôle et que le D5 induisait une apparition légèrement plus précoce des adénocarcinomes de l'endomètre utérin observés de façon classique chez le rat (ECHA, 2015 ; SCCS, 2015).

Le(s) mode(s) d'action du D5 expliquant l'apparition d'adénocarcinomes utérins ont été recherchés.

Il apparaît que le D5 n'est pas génotoxique : les résultats des études de génotoxicité *in vivo* et *in vitro* sont en effet tous négatifs (cf. partie 3.6).

Quinn *et al.* (2007) ont compilé différents tests *in vivo* et *in vitro* réalisés afin d'étudier les potentiels effets endocriniens du D5. Ces effets sont négatifs dans un test utérotrophique chez le rat chez deux souches (Sprague Dawley et Fischer 344), un test de Hershberger, un test de gène rapporteur à la luciférase, et des tests de liaison aux récepteurs œstrogéniques et à la progestérone (ER α , ER β , PR α et PR β). Le D5 ne semble donc pas avoir d'effet directement œstrogénique ou anti-œstrogénique, androgénique ou anti-androgénique, ou progestogénique.

La formation de catécholœstrogènes a également été identifiée comme cause probable d'apparition des adénocarcinomes. Cependant, après une exposition pendant 14 mois par inhalation de rats Fischer 344 au D5, aucune différence dans les concentrations en métabolites d'œstrogènes n'est notée avec le groupe contrôle (ECHA, 2015 ; SCCS, 2015).

En outre, l'induction d'adénocarcinomes par le D5 ne semble pas provenir directement d'un effet oxydant, inflammatoire, ou cytotoxique (Klaunig *et al.*, 2015, ECHA, 2015 ; SCCS, 2015).

De nombreuses études ont étudié l'effet de D5 sur les niveaux de prolactine sanguine.

Une des voies de régulation du taux de prolactine sanguine est l'action de la dopamine, qui en inhibe la libération. La prolactine a pour fonction le maintien du corps jaune chez le rat, et donc sa sécrétion de progestérone. L'hypothèse formulée serait donc que l'action du D5, *via* une action dopaminergique, augmenterait le ratio œstrogène / progestérone chez les rates âgées, induisant une stimulation anormale de l'endomètre utérin par les œstrogènes.

Une première étude par inhalation (nez seul) (ECHA, 2015 ; SCCS, 2015) a regardé les conséquences d'une exposition de 6 heures au D5 (2416 mg.m⁻³) chez des rates Fischer 344

ovariectomisées prétraitées à la réserpine (24 heures avant). La présence de réserpine a pour conséquence de diminuer le niveau de dopamine, donc d'induire une augmentation du niveau de prolactine dans le sang. Les niveaux de prolactine des animaux traités avec de la réserpine seule, ou de la réserpine et du D5 ont donc été comparés :

Tableau 19 : Effets d'une exposition au D5 sur le niveau de prolactine sérique chez des rates prétraitées à la réserpine

| <i>Traitement</i> | <i>Prolactine sérique (ng/ml)</i> |
|--------------------------|-----------------------------------|
| Contrôles ovariectomisés | 11 |
| Contrôles réserpine | 72 |
| Réserpine + D5 | 37 |

L'inhalation de D5 induit une diminution de 49% de la prolactine circulante par rapport au groupe contrôle traité à la réserpine seule.

Une deuxième expérimentation a été réalisée dans cette même étude. En plus de l'expérimentation précédente, les rates ont également été prétraitées avec du sulpiride, un antagoniste sélectif des récepteur D2 et D3 de la dopamine, afin de confirmer l'action dopaminergique du D5.

Tableau 20 : Effet du sulpiride sur le niveau de prolactine sérique diminué par du D5 chez des rates prétraitées à la réserpine

| <i>Traitement</i> | <i>Prolactine sérique (ng/ml)</i> |
|----------------------------|-----------------------------------|
| Contrôles ovariectomisées | 5 |
| Contrôles réserpine | 58 |
| Réserpine + D5 | 38 |
| Réserpine + D5 + Sulpiride | 395 |

Le traitement avec la réserpine conduit à un niveau de prolactine sérique 12 fois supérieur à celui du contrôle. Avec le traitement au D5, ce niveau diminue de 34%. Le prétraitement au sulpiride bloque l'action du D5 sur la prolactine sérique, démontrant que l'action du D5 se fait par la voie dopaminergique.

Dans une deuxième étude par inhalation (nez seul), chez des rates Fischer 344, le D5, contrairement aux deux expérimentations précédentes, n'a pas diminué les niveaux de prolactine

immédiatement après le traitement, mais avec un retard de 18 heures. Les auteurs estiment que cette différence peut être due à la deuxième exposition à la réserpine à T0 réalisée dans cette étude (ECHA, 2015 ; SCCS, 2015).

Tableau 21 : Résumé des effets du D5 sur les niveaux de prolactine circulante de rates

| Traitement | Prolactine sérique (ng/ml) | | | |
|--|----------------------------|------|------|-------|
| | T0 | T 4h | T 8h | T 18h |
| Contrôles ovariectomisés | 35 | 19 | 17 | 6 |
| Contrôles réserpine | 549 | 505 | 469 | 114 |
| Réserpine + 2416 mg.m ⁻³ D5 | 647 | 599 | 300 | 17 |
| Pergolide (contrôle positif) | 3 | NA | NA | NA |

Enfin, dans une dernière étude par inhalation (nez seul), les rats ont été exposés à 2416 mg.m⁻³ (160 ppm) de D5 pendant 5 jours. Les témoins négatifs ont été exposés à de l'air filtré, et le pergolide, un agoniste au récepteur D2 de la dopamine, a été utilisé en tant que témoin positif (ECHA, 2015 ; SCCS, 2015). Dans cette étude, la première avec un groupe contrôle non ovariectomisé, l'exposition au D5 ne diminue pas le taux de prolactine. Au contraire, la tendance semblerait inverse, sans que celle-ci soit statistiquement significative.

Tableau 22 : Niveaux de prolactine circulante avant et après exposition de rates par inhalation à 2416 mg.m⁻³ de D5

| Traitement | Prolactine sérique (ng/ml) | | | | | |
|----------------------------|----------------------------|----|----------|----------|----------|----|
| | J-1 | J1 | J5 (15h) | J5 (19h) | J5 (23h) | J6 |
| Contrôle | 59 | 53 | 49 | 71 | 55 | 58 |
| 2416 mg.m ⁻³ D5 | 69 | 70 | 66 | 131 | 130 | 82 |
| Pergolide | 57 | 7 | 11 | 10 | 6 | 9 |

D'autres études mécanistes ont regardé l'activité agoniste de la dopamine *in vitro*. Les résultats montrent qu'il n'y a pas d'interaction directe avec le récepteur D₂, mais qu'il pourrait y avoir des interactions avec certains aspects de la voie du récepteur D₂ contrôlant le relargage de prolactine, telle que la suppression de l'activité d'un second messager (ECHA, 2015 ; SCCS, 2015).

Afin d'évaluer les conséquences d'un éventuel effet agoniste à la dopamine chez le rat âgé, deux études *in vivo* (ECHA, 2015 ; SCCS, 2015) ont étudié les effets du D5 sur le cycle œstral. Ces deux études ont utilisé le pergolide en tant que témoin positif.

Dans la première étude, le D5 a été administré par inhalation corps entier pendant 90 jours à une dose de 2416 mg.m⁻³ chez des rates de 21 mois. De sensibles variations des taux de prolactine, progestérone ou d'œstrogènes sont observées, mais ne sont pas statistiquement significatives et très aléatoires d'une période à une autre. A noter que contrairement à ce qui aurait pu être attendu selon l'hypothèse formulée, l'action du D5 semble plus marqué et homogène pour les niveaux d'œstradiol. Les effets sur le ratio œstrogène/progestérone sont visibles, quoique toujours variables, mais conformes à ce qui était attendu. En parallèle, il est également observé une augmentation sensible du pourcentage de jours passé en phase « oestrogénique », c'est-à-dire en œstrus ou pré-œstrus, chez les rates traitées au D5 en comparaison du contrôle (ECHA, 2015 ; SCCS, 2015).

Dans la deuxième étude, le D5 a également été administré par inhalation à une dose de 2416 mg.m⁻³, pendant 14 mois, de 11 à 25 mois. Aucune modification n'a été observée entre les témoins et les rates traitées au D5 concernant les niveaux de prolactine, progestérone et d'œstrogènes circulants. Cependant, cette étude a également montré une augmentation du nombre de jours en phase oestrogénique par rapport au contrôle (ECHA, 2015 ; SCCS, 2015).

Les études disponibles ne confirment donc pas complètement l'hypothèse proposée, notamment concernant les taux d'hormones circulantes. Concernant les deux dernières études, les auteurs indiquent que cela pourrait être un effet des mesures trop éparses des taux d'hormones (tous les mois dans la première étude, toutes les 3 semaines dans la seconde). Cependant, les effets sur les taux hormonaux sont bien observés chez les témoins positifs traités au pergolide.

Au regard du mode d'action dopaminergique du D5 envisagé pour l'apparition d'adénocarcinomes de l'endomètre utérin, cet effet serait, selon les auteurs, non transposable à l'Homme.

En effet, chez le rat, le maintien du corps jaune et donc sa sécrétion de progestérone est assuré par la prolactine. Or, chez l'Homme, c'est la LH qui assure le maintien du corps jaune. Une déplétion en prolactine chez l'Homme n'aurait donc pas d'incidence sur le ratio œstrogène/progestérone. De plus, aucune augmentation du risque de cancer n'a été observé chez les femmes traitées pendant des années avec de la bromocriptine, un agoniste de la dopamine, pour une hyperprolactinémie (Burek, 1988).

Cependant, malgré les nombreuses études mécanistes réalisées, il apparaît que le mode d'action n'est pas encore tout à fait compris, et il ne peut pas être exclu que cet effet soit transposable à l'Homme.

4 Recueil des valeurs toxicologiques de référence

Aucune VTR existante à ce jour pour le D5.

5 Proposition de VTR chronique par inhalation

5.1 Choix de l'effet critique

Plusieurs effets sont observés dans les études réalisées avec le D5 et ont été envisagés comme effet critique :

- **Toxicité hépatique** : l'effet hépatique est l'effet le plus fréquemment observé dans le panel d'études réalisées sur le D5. En effet, dans toutes les études de toxicité répétée (par voie orale et par inhalation), il peut être observé au minimum une augmentation du poids du foie. Cette augmentation du poids du foie est associée à un doublement des γ -GT chez les femelles dans l'étude subchronique de Burns-Naas *et al.* (1998b). Selon l'US EPA (2002), cette augmentation est suffisante pour signer la toxicité d'un composé sur le foie. Cependant, le manque de reproductibilité de cette augmentation de γ -GT et le fait que cet effet ne soit pas associé à d'autres modifications de paramètres biochimiques ou histopathologiques dans cette même étude serait en faveur d'un effet adaptatif du foie, et non d'une toxicité.
- **Minéralisation vasculaire pulmonaire** : cet effet est observé dans l'étude 2-génération (Siddiqui *et al.*, 2007), sans être détaillé par les auteurs. Il est probable que ce qui est nommé ici comme minéralisation soit en fait une calcification. L'information tenue sur cet effet tel que décrit dans l'étude ne permet pas de le retenir comme critère d'évaluation de la toxicité.
- **Histiocytose alvéolaire** : l'histiocytose alvéolaire est une infiltration du tissu pulmonaire par des cellules de la lignée monocyte-macrophage. Cette histiocytose est différente d'une histiocytose langerhansienne, liée au tabac, retrouvée chez de jeunes sujets humains et qui est une pathologie multisystémique liée à l'accumulation de cellules de Langerhans. Cette histiocytose alvéolaire est observée également chez l'Homme suite à une exposition à la substance active herbicide paraquat, aux produits bitumeux ainsi qu'aux huiles de paraffine. Chez l'animal, selon Élies (thèse 2009), elle est rapportée dans des études de cancérogénèse dans lesquelles la souris C57BL/6 est le modèle utilisé. Selon Boorman (1990) et Mohr (1992) on retrouve de l'histiocytose chez le rat Fischer dans les études chroniques. De façon générale l'étiologie de l'histiocytose est non précisée. L'information tenue sur cet effet tel que décrit dans l'étude ne permet pas de le retenir comme critère d'évaluation de la toxicité.
- **Cancérogénicité** : des adénocarcinomes de l'endomètre utérin peuvent être observés dans l'étude de toxicité chronique. Malgré la significativité statistique à la plus haute dose, aucune relation dose-réponse n'apparaît, ce qui ne permet pas de pouvoir affirmer que cet effet est la conséquence de l'exposition au D5. De plus, le mécanisme d'action n'est pas complètement élucidé. Bien qu'il ne soit pas exclu que leur apparition soit un effet lié au vieillissement des rats, on ne peut affirmer que cet effet n'est pas transposable à l'Homme.

- **Inflammation pulmonaire** : l'inflammation pulmonaire est également un effet constant rapporté dans les études par toxicité répétée disponibles sur le D5. Malgré la prépondérance de cet effet, les relations dose-réponse sont difficiles à établir dans les études disponibles. Les effets inflammatoires sont en effet principalement observés à de fortes doses, pour lesquelles les animaux ne seraient plus exposés seulement à des vapeurs, mais également à des aérosols. Il est alors possible que cette inflammation soit la réaction physiologique de l'organisme à l'entrée d'un corps étranger, et ne soit donc pas spécifique au D5. Cependant, dans l'étude par exposition subchronique de Burns-Naas *et al.* (1998b), une augmentation de ce phénomène inflammatoire est observée à des concentrations pour lesquelles le D5 est encore sous forme vapeur. De plus, cet effet n'est pas réversible après un mois.

De l'analyse des nombreuses études sur le D5 il ressort que tous les effets évalués sont difficilement exploitables. Néanmoins, la large diffusion de ce composé nécessite d'établir une VTR. Les experts du CES ont donc choisi de retenir, par défaut, les effets inflammatoires pulmonaires comme effet critique pour la construction de la VTR. De plus, une VTR sur ces effets inflammatoires protégerait de l'apparition des adénocarcinomes observée dans l'étude par exposition chronique.

5.2 Analyse des VTR existantes

Aucune VTR existante à ce jour pour le D5.

5.3 Construction de VTR

5.3.1 Choix de l'étude clé

Comme dit précédemment, l'inflammation pulmonaire est observée dans de nombreuses études. L'étude subchronique de Burns-Naas *et al.* (1998b) est la seule pour laquelle une relation dose-réponse semble se dessiner, et une benchmark concentration (BMC) a pu être construite. Cependant, à la concentration la plus élevée, le D5 n'est plus uniquement sous forme de vapeurs, mais également d'aérosol.

5.3.2 Choix de la dose critique

Les données expérimentales établies sur l'inflammation pulmonaire ont pu être modélisées à l'aide des modèles mathématiques utilisés par le logiciel Proast (Proast software version 38) élaboré par le RIVM afin d'établir une Benchmark concentration (BMC).

L'objectif de la démarche est d'estimer la concentration correspondant à un niveau de réponse défini ou à un pourcentage défini de réponse supplémentaire par rapport au témoin. Ce niveau ou

ce pourcentage est appelé BMR pour Benchmark Response et correspond à un excès de risque de 10% (BMR recommandé par l'Anses et l'EFSA pour les données quantales)

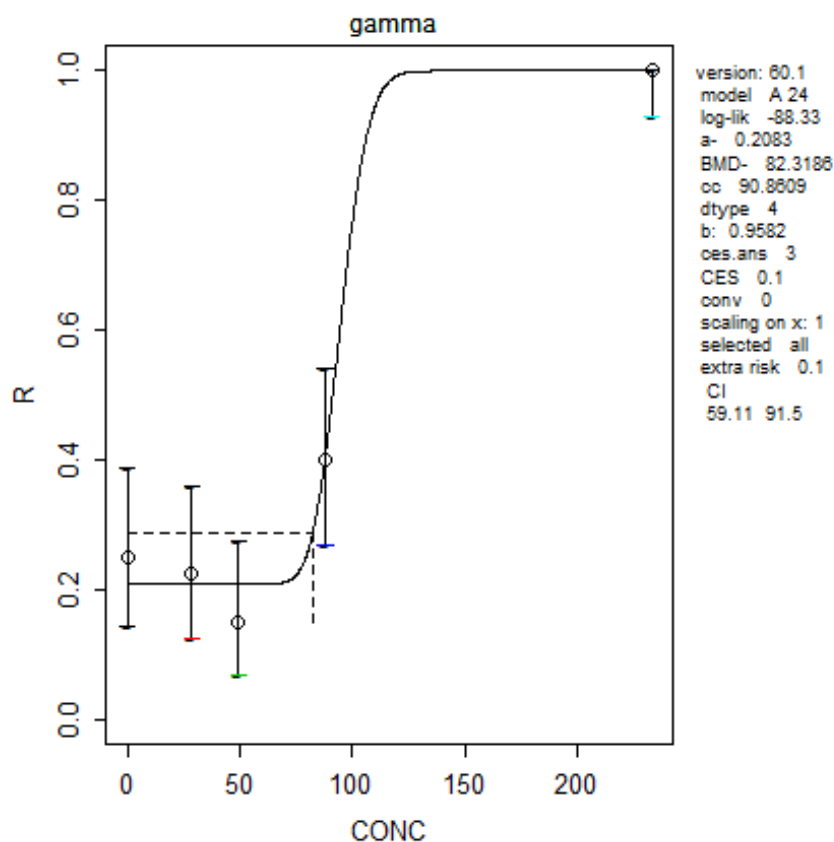


Figure 3 : Modélisation de l'inflammation pulmonaire

Lors de la détermination de la BMCL (limite inférieure de l'intervalle de confiance de la BMC), plusieurs modèles mathématiques ont été testés. La méthode d'ajustement du modèle aux données est le maximum de vraisemblance.

Dans le cas du D5, le modèle s'ajustant le mieux aux données expérimentales est le modèle Gamma.

Les valeurs retenues sont les suivantes :

- $BMC_{10\%}$: 82,3 ppm
- $BMC_{10\%L_{95\%}}$: 59,1 ppm

5.3.3 Ajustements

- Ajustement dosimétrique :

L'objectif est de réduire la valeur de l'incertitude sur la variabilité inter-espèce afin de déterminer une concentration équivalente humaine (HEC). Pour la voie respiratoire, l'U.S. EPA a développé différents ajustements dosimétriques qui sont réalisés en fonction des propriétés physicochimiques

de la substance inhalée (particules ou gaz, fortement solubles ou peu solubles dans l'eau) et du site où sont observés les effets critiques (respiratoires ou extra-respiratoires) conduisant à différentes équations (U.S. EPA, 1994).

D'après les recommandations de l'U.S. EPA (1994), le D5 doit être considéré comme un gaz de catégorie 3 (toxicité systémique). Ainsi, l'ajustement dosimétrique appliqué par défaut pour un gaz de catégorie 3 est le suivant :

$$BMC_{10\%L_{95\%} HEC} = BMC_{10\%L_{95\%} animal} \times (Hb/g)_{rat} / (Hb/g)_{Homme}$$

Avec (Hb/g) : coefficient de partition sang/air du D5

HEC : human equivalent concentration

Selon les données disponibles, les coefficients de partition sang/air du D5 seraient de 0,55 chez le rat et de 0,5 chez l'Homme (M. Andersen, communication personnelle, Novembre 2015, en cours de publication). Cependant le ratio $(Hb/g)_{rat} / (Hb/g)_{Homme}$ étant supérieur à 1 (1,1), l'US EPA propose de retenir la valeur par défaut de 1 qui est plus protectrice.

$$BMC_{10\%L_{95\%} HEC} = 59,1 \text{ ppm}$$

- Ajustement temporel :

Les animaux ont été exposés 6h/j, 5j/semaine. Pour tenir compte de la discontinuité de l'exposition, un ajustement temporel a été effectué :

$$BMC_{10\%L_{95\%} HED ADJ.} = BMC_{10\%L_{95\%} HED} \times (6/24) \times (5/7) = 10,55 \text{ ppm}$$

5.3.4 Choix des facteurs d'incertitude

Le calcul de la VTR à partir de la $BMC_{10\%L_{95\%} HED ADJ.}$ a été effectué à l'aide des facteurs d'incertitude suivants (Anses, 2015) :

- Variabilité inter-espèces (UF_A) : 2,5

L'ajustement dosimétrique réalisé a permis de calculer une concentration équivalente humaine, à l'aide de l'équation précédente. Pour tenir compte de la variabilité toxicodynamique et d'incertitudes résiduelles, un facteur d'incertitude supplémentaire a été fixé à 2,5.

- Variabilité interindividuelle (UF_H) : 10

Aucune donnée scientifique permettant de réduire la valeur par défaut n'étant disponible, la valeur de 10 est utilisée.

- Transposition subchronique à chronique (UF_S) : 1

Un UF_S a été envisagé, l'étude clé retenue pour la construction de la VTR étant une étude réalisée en exposition subchronique. Cependant, par consensus d'experts, pour ce type d'effet, il est

estimé qu'une étude par exposition subchronique de 90 jours est adéquate pour la construction d'une VTR chronique sans ajout de facteur d'incertitude supplémentaire.

- Utilisation d'une BMDL, d'un LOAEL/C ou d'un NOAEL/C ($UF_{B/L}$) : 1

La construction de la VTR est basée ici sur une BMCL, ce facteur ne s'applique pas.

- Insuffisance des données (UF_D) : 1

Les données toxicologiques sur le D5 ont été jugées suffisantes pour la construction de la VTR.

Un facteur d'incertitude global de **25** est donc utilisé pour la construction de la VTR du D5.

5.3.5 Proposition de VTR chronique par inhalation

$$\text{VTR} = 0,422 \text{ ppm soit } \mathbf{6,4 \text{ mg.m}^{-3}}$$

5.3.6 Niveau de confiance

Le niveau de confiance global a été attribué à cette VTR chronique par voie respiratoire en se basant sur les critères suivants :

- Niveau de confiance dans la nature et la qualité des données :

Fort : les données toxicologiques sont suffisantes pour évaluer ce composé.

- Niveau de confiance dans le choix de l'effet critique et le mode d'action :

Faible : c'est un effet retrouvé dans de nombreuses études, mais pour lequel une relation dose réponse est difficile à mettre en évidence. De plus, c'est un effet retrouvé majoritairement lors d'une exposition à des aérosols.

- Niveau de confiance dans choix de l'étude clé :

Moyen : il s'agit d'une étude bien détaillée qui suit les lignes directrice OCDE et les bonnes pratiques de laboratoire. Cependant, la concentration la plus élevée est constituée de 40% d'aérosol, et plus uniquement des vapeurs.

- Niveau de confiance dans le choix de la dose critique :

Faible : la qualité de la relation dose réponse est faible malgré la construction de la BMC. De plus, concernant les facteurs d'incertitudes, aucune donnée n'a pu permettre de se départir des valeurs par défaut.

Le niveau de confiance global pour cette VTR est donc **faible**.

6 Conclusions du CES

Une VTR chronique par inhalation est proposée pour le D5 (Tableau 23). Un niveau de confiance faible a été attribué à cette VTR.

Tableau 23 : VTR chronique par voie respiratoire pour le D5

| Effet critique (étude clé) | Concentration critique | UF | VTR |
|--|---|---|--|
| Inflammation pulmonaire Burns-Naas <i>et al.</i> , 1998b : étude 13 semaines chez des rats F344 | BMC _{10%} L _{95%} = 59,1 ppm | 25 UF _A : 2,5 UF _H : 10 | VTR = 6,4 mg.m⁻³ soit 0,422 ppm |
| | <u>Ajustement dosimétrique</u> BMC _{10%} L _{95%} HEC= 59,1 ppm | | Niveau de confiance Faible |
| | <u>Ajustement temporel</u> BMC _{10%} L _{95%} HED ADJ.= 10,55 ppm | | |

Le rapport a été validé à la majorité des experts présents (14 pour sur 18 experts présents). Quatre experts ont choisi de s'abstenir au regard des données disponibles pour caractériser la dangerosité de la substance, de l'effet critique retenu, à savoir l'inflammation pulmonaire chez le rongeur, et de l'absence de dose/réponse pour cet effet. Néanmoins, ils ne remettent pas en cause l'utilité de construire une VTR afin de pouvoir gérer les risques potentiels du D5 au vu des nombreuses utilisations de cette substance en population générale.

Date de validation du rapport d'expertise collective par le comité d'experts spécialisé : le 12/11/2015

Signature :

Maisons-Alfort, le _____ ,

Au nom des experts du CES

« Caractérisation des dangers des substances et valeurs toxicologiques de référence »,

M Guerbet

Président du CES

7 Bibliographie

Agence Européenne des Produits Chimiques (ECHA). Substances enregistrées. Decamethylcyclopentasiloxane. http://apps.echa.europa.eu/registered/data/dossiers/DISS-9d82d68d-a71c-2317-e044-00144f67d249/DISS-9d82d68d-a71c-2317-e044-00144f67d249_DISS-9d82d68d-a71c-2317-e044-00144f67d249.html (consulté le 23/09/2015)

Agence française de normalisation (AFNOR), Qualité en expertise - Prescriptions générales de compétence pour une expertise. Norme française NF X 50-110, Mai 2003.

Agence nationale de sécurité sanitaire de l'alimentation, de l'environnement et du travail (Anses), (2015) Valeurs toxicologiques de référence (VTR), Guide d'élaboration de VTR.

Burek, J.D., D.H. Patrick, and R.J. Gerson (1988) Weight-of-biological evidence approach for assessing carcinogenicity. In: Carcinogenicity, HC Grice and JL Cimina (eds). Springer-Verlag, New York, pp. 83-85

Burns-Naas LA, Mast RW, Klykken PC, McCay JA, White KL, Jr., Mann PC, and Naas DJ (1998a). Toxicology and Humoral Immunity Assessment of Decamethylcyclopentasiloxane (D5) Following a 1-Month Whole Body Inhalation Exposure in Fischer 344 Rats. *Toxicological Sciences* 43, 28 - 38

Burns-Naas LA, Mast RW, Meeks RG, Mann PC, and Thevenazt P (1998b) Inhalation Toxicology of Decamethylcyclopentasiloxane (D5) Following a 3-Month Nose-Only Exposure in Fischer 344 Rats. *Toxicological Sciences* 43, 230-240

Boorman G.A., Eustis S.L., Elwell M.R., Montgomery Jr. C.A., Mackenzie W.F. (1990). Pathology of the Fischer rat. Academic Press, San Diego p. 346–490.

Carpenter CP, Weil CS, Smyth Jr HF (1974) Range-finding toxicity data : list VIII. *Toxicology And Applied Pharmacology* 28,313-319.

Charles River Laboratories, (1990) Spontaneous Neoplastic Lesions in the CDF® (F-344)/CrIBR Rat.

Descat, F. (2002) *Hématologie du rat : hémogramme et myélogramme*. Thèse d'exercice, Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse - ENVT, 110 p.

Elies L. (2009) Lésions histopathologiques spontanées observées chez la souris C57BL/6 au cours des études de cancérogénèse

Haseman, JK, Hailey JR, and Morris RW, (1998) Spontaneous neoplasm incidences in Fischer 344 rats and B6C3F1 mice in two-year carcinogenicity studies: A National Toxicology Program update. *Toxicologic Pathology*, 26: p. 428-441

Jean, P.A., Plotzke, K.P., Scialli, A.R., (2015) Chronic Toxicity and Oncogenicity of Decamethylcyclopentasiloxane in the Fischer 344 Rat, *Regulatory Toxicology and Pharmacology*

- Jovanovic ML, McMahon JM, McNett DA, Tobin JM, Plotzke KP (2008) *In vitro* and *In vivo* percutaneous absorption of ^{14}C -octamethylcyclotetrasiloxane (^{14}C -D4) and ^{14}C -decamethylcyclopentasiloxane (^{14}C -D5). *Regulatory Toxicology and Pharmacology* 50 239–248.
- Klaunig, J.E., Dekant, W., Plotzke, K.P., Scialli A.R., (2015) Biological relevance of decamethylcyclopentasiloxane (D5) induced rat uterine endometrial adenocarcinoma tumorigenesis: Mode of action and relevance to humans, *Regulatory Toxicology and Pharmacology*
- Kuroiwa, Y, Kasahara, K, Nagatani, M, Yamakawa, S and Okazaki, S (2013) Transition of Historical Control Data for High Incidence Tumours in F344 Rats *J Toxicol Pathol.* June; 26(2): 227–230.
- Maekawa A, Kurokawa Y, Takahashi M, Kokubo T, Ogiu T, Onodera H, Tanigawa H, Ohno Y, Furukawa F, Hayashi Y, (1983) Spontaneous tumors in F344/DuCrj rats. *Gan* 1983. 74: p. 365-372.
- McKim JM Jr, Choudhuri S, Wilga PC, Madan A, Burns-Naas LA, Gallavan RH, Mast RW, Naas DJ, Parkinson A, Meeks RG (1999) Induction of hepatic xenobiotic metabolizing enzymes in female Fischer-344 rats following repeated inhalation exposure to decamethylcyclopentasiloxane (D5). *Toxicol. Sci.* Jul;50(1):10-9
- Mohr U., Dungworth D.L., Capen C.C. (1992). *Pathology of the aging rat.* ILSI Press, Washington, DC p. 147–50.
- Naim JO, Ippolito KML, van Oss CJ (1997) Adjuvancy effect of different types of silicone gel. *J Biomed Mater Res.* 15;37(4):534-8.
- Nyska A, Klein T, Scolnik M, Waner T, Klein B (1994) Unusually High Incidence of Spontaneous Endometrial Adenocarcinoma in Aged Virgin Fischer Rats. *Experimental and Toxicologic Pathology.* 46: p. 7-9.
- OCDE (2012) Essai n°405 Effet irritant/corrosif aigu sur les yeux. Lignes directrices de l'OCDE pour les essais de produits chimiques, Section 4. Effets sur la santé. DOI : 10.1787/9789264185548-fr
- Quinn AL, Regan JM, Tobin JM, Marinik BJ, McMahon JM, McNett DA, Sushynski CM, Crofoot SD, Jean PA, Plotzke KP. (2007) *In vitro* and *in vivo* evaluation of the oestrogenic, androgenic, and progestagenic potential of two cyclic siloxanes. *Toxicol Sci,* 96(1):145–153.
- Rao GN, Haseman JK, Grumbein S, Crawford DD, Eustis SL. (1990) Growth, bodyweight, survival, and tumour trends in F344\N rats during eleven-year period. *Toxicol Pathol;* 18: 61-70.
- Reddy, M.B., Dobrev, I.D., Mcnett, D.A., Tobin, J.M., Utell, M.J., Morrow, P.E., Domoradzki, J.Y., Plotzke, K.P., Andersen, M.E. (2008) Inhalation dosimetry modeling with decamethylcyclopentasiloxane in rats and humans. *Toxicol. Sci.* 105(2), 275-285
- Santé Canada (2008) Évaluation préalable pour le Défi concernant le décaméthylcyclopentasiloxane (D5).
- SCCS (Scientific Committee on Consumer Safety), Opinion on cyclomethicone D4/D5, 22 June 2010.

SCCS (Scientific Committee on Consumer Safety), Opinion on decamethylcyclopentasiloxane (cyclopentasiloxane, D5) in cosmetic products. 25 march 2015.

Siddiqui WH, Stump DG, Reynolds VL, Plotzke KP, Holson JF, Meeks RG (2007) A two-generation reproductive toxicity study of decamethylcyclopentasiloxane (D5) in rats exposed by whole-body vapor inhalation. *Reproductive Toxicology* 23, 216–225

Tobin JM, McNett DA, Durham JA, Plotzke KP (2008) Disposition of Decamethylcyclopentasiloxane in Fischer 344 Rats Following Single or Repeated Inhalation Exposure to 14C-Decamethylcyclopentasiloxane (14C-D5). *Inhalation Toxicology*, 20:513–531.

US Environmental Protection Agency (U.S. EPA) (1994) Methods for derivation of inhalation reference and concentration and application of inhalation dosimetry. Environmental Criteria and Assessment Office. Office of Health and Environmental Assessment. EPA/600/8-90/066F. (US EPA, Washington DC.) 389p.

U.S. EPA (2002) Hepatocellular hypertrophy. HED guidance document #G2002.01. Technical Report.

Varaprath S, McMahon JM, Plotzke KP (2003) Metabolites of hexamethyldisiloxane and decamethylcyclopentasiloxane in Fischer 344 rat urine—a comparison of a linear and a cyclic siloxane. *DMD* 31:206–214

Zhang J, Falany JL, Xie X, Falany CN (2000) Induction of rat hepatic drug metabolizing enzymes by dimethylcyclosiloxanes. *Chemico-Biological Interactions* 124, 133–147.

ANNEXES

Annexe 1 : Liens mentionnés dans les déclarations publiques d'intérêts des experts

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

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

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

RAPPEL DES RUBRIQUES DE LA DÉCLARATION PUBLIQUE D'INTÉRÊTS

- 1.1. Activité principale exercée actuellement
- 1.2. Activités exercées à titre principal au cours des 5 dernières années
- 2.1. Activités exercées à titre secondaires : participation à une instance décisionnelle d'un organisme public ou privé dont l'activité, les techniques ou produits entrent dans le champ de compétences, en matière de santé publique et de sécurité sanitaire, de l'instance collégiale au sein de laquelle l'expert intervient (actuellement et au cours des 5 années précédentes).
- 2.2. Activités exercées à titre secondaires : activité de consultant, de conseil ou d'expertise auprès d'un organisme entrant dans le champ de compétence, en matière de santé publique et de sécurité sanitaire, de l'instance collégiale au sein de laquelle l'expert intervient (actuellement et au cours des 5 années précédentes).
- 2.3. Activités exercées à titre secondaires : participation à des travaux scientifiques pour des organismes publics et/ou privés entrant dans le champ de compétence, en matière de santé publique et de sécurité sanitaire, de l'instance collégiale au sein de laquelle l'expert intervient (actuellement et au cours des 5 années précédentes).
- 2.4. Activités exercées à titre secondaires : rédaction d'articles, interventions dans des congrès, conférences, colloques, réunions publiques diverses ou formations organisés ou soutenus financièrement par des entreprises ou organismes privés entrant dans le champ de compétence, en matière de santé publique et de sécurité sanitaire, de l'instance collégiale au sein de laquelle l'expert intervient (actuellement et au cours des 5 années précédentes).
- 2.5. Activités exercées à titre secondaires : inventeur et/ou détenteur d'un brevet ou d'un produit, procédé ou toute autre forme de propriété intellectuelle non brevetée en relation avec le champ de compétence, en matière de santé publique et de sécurité sanitaire, de l'instance collégiale au sein de laquelle l'expert intervient (actuellement et au cours des 5 années précédentes).
- 3. Activités dirigées par l'expert et qui ont bénéficié d'un financement par un organisme à but lucratif dont l'objet social entre dans le champ de compétence, en matière de

santé publique et de sécurité sanitaire, de l'instance collégiale au sein de laquelle l'expert intervient (actuellement et au cours des 5 années précédentes).

4. Participations financières de l'expert dans le capital d'une société dont l'objet social entre dans le champ de compétence, en matière de santé publique et de sécurité sanitaire, de l'instance collégiale au sein de laquelle l'expert intervient (actuellement et au cours des 5 années précédentes).
5. Proches parents de l'expert salariés et/ou possédant des intérêts financiers dans toute structure dont l'objet social entre dans le champ de compétence, en matière de santé publique et de sécurité sanitaire, de l'instance collégiale au sein de laquelle l'expert intervient (actuellement et au cours des 5 années précédentes).
6. Autres liens d'intérêts (actuellement et au cours des 5 années précédentes).

POUR LE COMITÉ D'EXPERT SPÉCIALISÉ

Notes



Agence nationale de sécurité sanitaire
de l'alimentation, de l'environnement et du travail
14 rue Pierre et Marie Curie
94701 Maisons-Alfort Cedex
www.anses.fr / [@Anses_fr](https://twitter.com/Anses_fr)