

Le directeur général

Maisons-Alfort, le 2 septembre 2020

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

relatif à une demande d'inscription du MMB (3-méthoxy-3-méthyl-1-butanol) en tant que constituant autorisé dans la composition des produits de nettoyage des surfaces destinées à entrer en contact avec les denrées alimentaires en application de l'arrêté du 8 septembre 1999.

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 à 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 publiés sur son site internet.

L'Anses a été saisie le 16 juillet 2019 par la Direction Générale de la Concurrence, de la Consommation et de la Répression des Fraudes (DGCCRF) pour rendre un avis sur une demande d'inscription du MMB (3-méthoxy-3-méthyl-1-butanol) en tant que constituant autorisé dans la composition des produits de nettoyage des surfaces destinées à entrer en contact avec les denrées alimentaires en application de l'arrêté du 8 septembre 1999.

1. CONTEXTE ET OBJET DE LA SAISINE

La réglementation française comporte des textes spécifiques aux produits de nettoyage des matériaux au contact des denrées alimentaires :

- Le décret 73-138 du 12 février 1973 portant application de la loi du 1^{er} août 1905 sur la répression des fraudes en ce qui concerne les produits chimiques dans l'alimentation humaine et les matériaux et objets au contact des denrées, produits et boissons destinés à l'alimentation de l'homme et des animaux ainsi que les procédés et produits utilisés pour le nettoyage de ces matériaux et objets.
- L'arrêté du 8 septembre 1999 établissant la liste positive des constituants autorisés.
- L'instruction du 27 août 1986 relative aux demandes d'autorisation d'emploi de constituants dans des produits destinés au nettoyage de matériaux pouvant être mis au contact d'aliments.

En juin 2011, l'Anses a émis un avis relatif à la révision des lignes directrices pour l'évaluation des risques pour l'Homme des constituants des produits de nettoyage des matériaux et objets destinés au contact des denrées alimentaires (saisine n°2011-SA-0081).

L'Anses a également émis un avis relatif à un projet d'arrêté modifiant l'arrêté du 8 septembre 1999 (saisine 2012-SA-0229).

Dans ce contexte, le pétitionnaire a adressé à la DGCCRF une demande d'avis relative à une demande d'inscription du MMB (3-méthoxy-3-méthyl-1-butanol) en tant que constituant autorisé dans la composition des produits de nettoyage des surfaces destinées à entrer en contact avec les denrées alimentaires en application de l'arrêté du 8 septembre 1999.

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 groupe de travail pérenne (GT) « Évaluation des substances et procédés soumis à autorisation en alimentation humaine » (GT ESPA), réuni le 12 décembre 2019 et le 16 janvier 2020, sur la base de rapports d'expertise préparés par les experts du GT ESPA. Suite à cette expertise, une demande de compléments d'information relative à la caractérisation du danger et aux calculs d'exposition a été transmise au pétitionnaire. Ce dernier n'ayant pas donné suite, le dossier de saisine a été clôturé. Ces travaux ont été adoptés par le GT ESPA réuni le 16 juillet 2020.

L'expertise collective a porté sur le dossier fourni par le pétitionnaire. Le GT ESPA s'est également appuyé sur l'avis n°2011-SA-0081 relatif à la révision des lignes directrices pour l'évaluation des risques pour l'Homme des constituants des produits de nettoyage des matériaux et objets destinés au contact avec des denrées alimentaires.

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

Les déclarations d'intérêts des experts sont publiées sur le site internet de l'Anses (www.anses.fr).

3. ANALYSES ET CONCLUSIONS DU GT ESPA

3.1. Données physico-chimiques de la substance

Le 3-méthoxy-3-méthylbutan-1-ol (MMB ; CAS : 56539-66-3) ou 3-méthoxy-3-méthyl-1-butanol (dénomination commerciale) est une substance de formule $C_6H_{14}O_2$. Le MMB possède une solubilité de 100 g/L à 20°C, un coefficient de partage octanol/eau (log de P) de 0,18 à 25°C ainsi qu'une pression de vapeur de 47 Pa à 20°C.

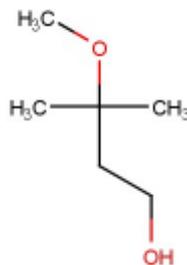


Figure 1 : Formule développée du MMB

Dans son dossier, le pétitionnaire a également explicité la voie de synthèse du MMB et référencé les NIAS (non intentionally added substances) et leur concentration dans le produit final (données confidentielles).

Remarques du GT ESPA :

Les données physico-chimiques du MMB, substance faisant l'objet de cette demande, sont clairement renseignées.

Néanmoins, dans son dossier de demande, le pétitionnaire a listé 8 NIAS dont 5 n'ont pas été identifiés.

3.2. Usages et rôle technologique

Le MMB présente des fonctions de solvant, solubilisant, dégraissant et hydrotrope. Comme indiqué par le pétitionnaire dans son dossier, le MMB est destiné à des utilisations de nettoyage dans le domaine industriel pour tous types de surfaces : plan de travail, évier, céramiques, carreaux, robinetterie, inox, métal, murs, etc. Le produit de nettoyage peut être appliqué par spray ou par essuyage avec une étape de rinçage obligatoire. Enfin, le pétitionnaire précise que les aliments en contact avec les surfaces ayant été nettoyées par le produit commercial final sont de tous types.

3.3. Calcul des niveaux d'exposition

3.3.1. Niveau d'exposition relatif au MMB

Afin de déterminer les niveaux d'exposition des consommateurs au MMB, le pétitionnaire propose une approche théorique consistant à déterminer le niveau d'exposition théorique (NET). Pour le calcul du NET le pétitionnaire se repose sur les documents suivants :

- la feuille de calcul du BfR qui s'appuie sur le Guide Biocide ECHA « Guidance on the BPR: Volume III Human Health, Assessment + Evaluation (Parts B+C) – version Dec 2017 ».
- le guide du human and environmental risk assessment on ingredients of household products (HERA).

Le NET a été calculé selon la formule ci-dessous :

$$\text{NET} = C_{sa} \times D_a \times A \times C_t \times F_a$$

Avec :

- C_{sa} la concentration de la substance active = donnée confidentielle ;
- D_a la dose d'application = donnée confidentielle ;
- A l'aire de contact avec l'aliment = 0,2 m² ;
- C_t le coefficient de transfert du résidu du matériau vers l'aliment = 1 ;
- F_a le facteur additionnel d'affinement = 0,1 ;

D'après la feuille de calcul proposée par le BfR, le NET calculé par le pétitionnaire est de 4800 µg/personne/jour.

L'aire de contact de 0,2 m² a été proposée par l'US EPA telle que mentionnée dans le rapport de l'ECHA : guidance on the biocidal products regulation. Cette aire de contact est issue de la valeur de 0,4 m² utilisée par la FDA pour évaluer les produits désinfectants au contact des MCDA. Cette

surface concerne les ustensiles, plats et verres utilisés pour 3 repas par jour. Cette valeur est divisée par 2 pour considérer uniquement les plans de travail.

Remarques du GT ESPA :

D'après le GT, aucune argumentation technique n'est fournie par l'US EPA ou l'ECHA permettant de justifier l'emploi d'une surface de 0,4 m² divisée par 2 pour les usages alimentaires pratiqués sur des plans de travail.

Concernant le facteur additionnel d'affinement, il est précisé qu'après l'étape de rinçage, 10 % du produit est susceptible de demeurer à l'état de résidu sur la surface nettoyée puis rincée (valeur indiquée dans le rapport du HERA). Le GT souligne que cette valeur manque de précision. En effet, il n'est pas précisé si le facteur additionnel d'affinement de 10 % du produit fait référence à un volume ou une masse résiduelle.

Du fait des incertitudes relevées par le GT concernant les paramètres cités ci-dessus et de l'absence de données analytiques, le GT a demandé au pétitionnaire de déterminer à nouveau le NET en suivant l'une des 2 approches proposées en conclusion.

3.3.2. Niveaux d'expositions relatifs aux NIAS

Le pétitionnaire ne propose pas de calcul permettant d'estimer le NET des 8 NIAS listés dans le dossier.

Remarque du GT ESPA :

A partir des niveaux d'impuretés mentionnés par le pétitionnaire pour chacun des NIAS (données confidentielles), le GT a estimé le NET pour l'ensemble des NIAS. Pour deux d'entre eux, le NET est inférieur à 0,5 µg/personne/jour. Pour ces niveaux de NET, les requis toxicologiques reposent sur des données QSAR. Pour les 6 autres NIAS, le NET est compris entre 0,5 et 50 µg/personne/jour. Pour ces niveaux de NET, les requis toxicologiques reposent sur 2 tests de génotoxicité *in vitro* tels qu'ils sont rappelés dans les lignes directrices de constitution des dossiers des produits de nettoyage¹.

3.4. Données toxicologiques

3.4.1. Requis toxicologique dans le cadre réglementaire de cette saisine

Conformément aux lignes directrices de l'Anses pour l'évaluation des risques pour l'Homme des constituants des produits de nettoyage des matériaux et objets destinés au contact avec des denrées alimentaires (saisine n°2011-SA-0081), le pétitionnaire doit présenter un dossier toxicologique comprenant, pour un NET compris entre 50 et 5000 µg/personne/jour :

- 2 ou 3 tests de génotoxicité *in vitro* :
 - un test de mutation génique sur bactéries ;
 - un test de mutation génique sur cellules de mammifères ;
 - un test d'aberration chromosomique sur cellules de mammifères ;
- OU
- un test de mutation génique sur bactéries ;

¹ Saisine n°2011-SA-0081

- un test du micronoyau sur cellules de mammifères ;
- une étude de toxicité sub-chronique par voie orale, avec réversibilité ;
- toute donnée pertinente permettant d'apprécier le potentiel de bioaccumulation chez l'Homme.

Remarque du GT ESPA :

Les études de toxicité relatives au MMB fournies par le pétitionnaire sont suffisantes au vu du NET (Cf. ci-dessous). Elles ont toutes été effectuées conformément aux principes des Bonnes Pratiques de Laboratoire (BPL) et aux lignes directrices de l'OCDE en vigueur au moment de leur réalisation. Les rapports d'étude complets ont été fournis en annexe. Ces données toxicologiques ont également été soumises dans le cadre de l'enregistrement REACH de la substance. Les résumés des études sont disponibles sur le site de l'ECHA.

3.4.2. Analyse des données de génotoxicité

3.4.2.1. Test de mutation génique sur bactéries (n°1)

L'objectif de cette étude était de déterminer le potentiel du MMB (lot L-754148, pureté > 99,9%) et/ou de ses métabolites à induire des mutations reverses au niveau du locus histidine (His) dans les souches de *Salmonella typhimurium* (*S. typhimurium*) TA98, TA100, TA1535, TA1537 et TA1538, et du locus tryptophane (Trp) dans la souche d'*Escherichia coli* (*E. coli*) WP2 uvrA, en présence ou non d'un système exogène d'activation métabolique (S9 de foies de rats induits par l'arochlor 1254). Le produit a été testé en solution dans de l'eau.

Le test a été effectué conformément à la ligne directrice de l'OCDE N°471 en vigueur lors de sa réalisation (1989) et en suivant les BPL. D'après la synthèse réalisée par l'ECHA, cette étude est de bonne qualité car elle a été notée « fiable sans restriction » d'après la cotation de Klimisch (cotation 1).

Essai préliminaire de toxicité

Un premier essai préliminaire a été réalisé sur toutes les souches (*S. typhimurium* et *E. coli*) avec une gamme de 4 doses allant de 5 à 5000 µg/boîte en utilisant la méthode standard d'incorporation directe en agar, avec et sans S9. Aucune toxicité n'a été mise en évidence. La dose maximale de 5 000 µg/boîte a donc été retenue comme dose maximale pour l'essai principal de mutagenèse.

Essais principaux de mutagenèse

L'étude principale de mutagenèse a été réalisée dans 2 essais indépendants, par la méthode d'incorporation directe, avec et sans S9, avec une gamme de 5 doses allant de 312,5 à 5000 µg/boîte.

Un témoin négatif (solvant : eau) et des témoins positifs (sans S9 : 9-aminoacridine pour la souche TA1537, N-éthyl-N-nitro-N-nitrosoguanidine pour les souches TA100, TA 1535 et WP2 uvrA, 2-nitrofluorène pour les souches TA98 et TA1538 ; avec S9 : 2-aminoanthracène pour toutes les souches) ont également été testés.

Résultats

Dans toutes les conditions testées, le MMB n'a pas induit d'augmentation significative du nombre de colonies révertantes (His+) pour chacune des 5 souches de *S. typhimurium* testées TA1535, TA1537, TA1538, TA98 et TA100, et du nombre de colonies révertantes (Trp+) dans la souche d'*E. coli* WP2 uvrA, en présence et en absence d'activation métabolique.

Commentaires du GT ESPA :

Sur le plan expérimental, le test d'Ames a été correctement effectué (2 essais indépendants avec et sans S9, 5 doses testées, triplicat/dose, dose maximale testée recommandée...).

Sur le plan méthodologique, 5 souches de *S. typhimurium* (TA1535, TA1537, TA1538, TA98, et TA100) et 1 souche d'*E. coli* (WP2 uvrA) ont été utilisées. Afin d'optimiser la mise en évidence de mécanismes de pontages ou d'oxydation, il aurait été préférable d'inclure une souche proficiente en réparation de l'ADN telle que *S. typhimurium* TA102, ou *E. coli* WP2 ou WP2 pKM101. De plus, certaines informations sont manquantes (données de stabilité et d'homogénéité de l'élément d'essai dans le véhicule, contrôles des concentrations dans les solutions de traitement, valeurs des témoins historiques...). Cependant, l'étude ayant été réalisée en suivant les BPL, on peut supposer que ces informations sont existantes mais n'ont pas été incluses dans le rapport d'étude correspondant. Cela ne remet donc pas en cause l'intégrité de l'étude.

Le potentiel mutagène du MMB a été évalué conformément à la ligne directrice de l'OCDE N°471 en vigueur lors de la réalisation de l'étude (1989) et dans le respect des principes des BPL. Les témoins positifs ont induit des augmentations nettes du nombre de révertants confirmant l'activité du S9-mix et la sensibilité des souches bactériennes utilisées. Les résultats montrent une absence d'activité mutagène du MMB dans les 2 essais indépendants effectués sur *S. typhimurium* TA1535, TA1537, TA1538, TA98 et TA100, et sur *E. coli* WP2 uvrA, avec et sans activation métabolique exogène.

3.4.2.2. Test de mutation génique sur bactéries (n°2)

Le pétitionnaire cite également un autre test de mutation génique sur bactéries qui est disponible sur le site de l'ECHA dans le dossier d'enregistrement REACH de la substance. L'analyse de cette étude par le rapporteur est présentée ci-dessous.

Cette étude de 2002 notée « Fiabilité 1 » (fiable sans restriction) a été effectuée conformément à la ligne directrice OCDE N°471 et aux lignes directrices japonaises « Guidelines for Screening Mutagenicity Testing Of Chemicals » en vigueur lors de sa réalisation, et en suivant les BPL.

L'étude de mutagenèse a été réalisée dans 2 essais indépendants (par la méthode standard d'incorporation directe sur boîtes et par la méthode de pré-incubation) sur 4 souches de *S. typhimurium* TA98, TA100, TA1535 et TA1537 et sur la souche d'*E. coli* WP2 uvrA. Le MMB (pureté 99,19 %) a été testé en solution dans l'eau. Le MMB ne présentant pas de toxicité, la dose maximale de 5 000 µg/boîte a été utilisée dans les 5 souches bactériennes, avec et sans activation métabolique (S9 de foies de rats induits par un mélange de phénobarbital et de 5,6-benzoflavone). Quatre doses inférieures ont également été testées (313, 625, 1 250 et 2 500 µg/boîte). Des témoins négatifs et positifs de référence ont été inclus dans chaque essai.

Les résultats ne montrent aucune augmentation significative de la fréquence des révertants quelle que soit la souche, avec et sans S9-mix. Tous les contrôles positifs ont induit des augmentations nettes du nombre de révertants confirmant l'activité du S9-mix et la sensibilité des souches bactériennes. L'ECHA a conclu que le MMB est non mutagène dans les conditions expérimentales testées.

Commentaires du GT ESPA :

Le potentiel mutagène du MMB a été évalué conformément à la ligne directrice de l'OCDE N°471 en vigueur lors de la réalisation de l'étude (2002) et dans le respect des principes des BPL. Malgré l'absence des données brutes sur le site de l'ECHA, l'étude semble avoir été correctement réalisée d'un point de vue expérimental et méthodologique.

Les résultats montrent une absence d'activité mutagène du MMB dans les 2 essais indépendants effectués sur *S. typhimurium* TA1535, TA1537, TA98 et TA100, et sur *E. coli* WP2 uvrA, avec et sans activation métabolique exogène.

Ce résultat confirme les données de l'étude précédente à savoir une absence de potentiel mutagène sur bactéries.

3.4.2.3. Test de mutation génique sur cellules de mammifère

Le potentiel mutagène du MMB a également été étudié avec le test de mutation génique au locus Thymidine Kinase sur cellules de lymphome de souris L5178Y (test MLA/TK) réalisé selon la ligne directrice de l'OCDE N°476 et la norme ISO 10993 (parties 3 et 12) en vigueur lors de la réalisation de l'étude (2012), et en suivant les BPL. D'après la synthèse réalisée par l'ECHA, cette étude est de bonne qualité car elle a été notée « fiable sans restriction » d'après la cotation de Klimisch (cotation 1).

Cette étude a été effectuée sur le produit MMB (lot 32726, pureté 99,47%) avec et sans activation métabolique (S9 de foies de rats induits par l'arochlor 1254). Le produit a été testé en solution dans l'eau distillée.

Essai préliminaire de cytotoxicité

Un essai préliminaire de toxicité a été réalisé afin de déterminer la gamme de doses à utiliser (données non fournies dans le rapport d'étude). Un effet cytotoxique (inhibition de la croissance cellulaire) a été observée aux doses $\geq 0,5$ mg/mL. La dose de 0,5 mg/mL a donc été définie comme dose maximale dans l'essai principal.

Essai principal de génotoxicité

Lors de l'étude principale de mutagenèse, les cellules L5178Y ont été traitées pendant 4h, avec et sans S9, avec une gamme de 4 doses allant de 0,0625 à 0,5 mg/mL. Une évaluation de la cytotoxicité (détermination du pourcentage de croissance totale relative (RTG)) a été effectuée en parallèle.

Des témoins négatifs (solvant : eau distillée) et positifs (méthyl-méthane-sulfonate sans S9 et benzopyrène avec S9) ont été inclus dans chaque essai.

Résultats

En termes de cytotoxicité, des diminutions dose-reliées du pourcentage de RTG des cellules traitées avec l'élément d'essai ont été notées. La dose maximale testée de 0,5 mg/mL a induit un niveau de toxicité optimal recommandé dans la ligne directrice de l'OCDE (*i.e.* entre 10-20% de RTG).

En termes de mutagenèse, aucune augmentation de la fréquence de mutation n'a été observée en présence et absence d'activation métabolique.

Commentaires du GT ESPA :

Sur le plan expérimental, le test d'aberration chromosomique *in vitro* a été correctement effectué (traitement court avec et sans S9, a minima 3 doses testées, dose maximale testée recommandée induisant un taux de croissance relative compris entre 10 et 20% dans le cas d'un produit cytotoxique...). En revanche le nombre de réplicats/dose n'est pas indiqué.

Sur le plan méthodologique, certaines informations sont manquantes (données brutes, données de stabilité et d'homogénéité de l'élément d'essai dans le véhicule, contrôles des concentrations dans les solutions de traitement, valeurs des témoins historiques...). Cependant, l'étude ayant été

réalisée en suivant les BPL, on peut supposer que ces informations sont existantes mais n'ont pas été incluses dans le rapport d'étude correspondant. Cela ne remet donc pas en cause l'intégrité de l'étude.

Le potentiel mutagène du MMB a été évalué dans le test de mutation génique au locus Thymidine Kinase sur cellules de lymphome de souris L5178Y conformément à la ligne directrice de l'OCDE N°476 en vigueur lors de la réalisation de l'étude (2012) et dans le respect des principes des BPL. NB : La ligne directrice de l'OCDE a récemment été scindée en 2 lignes directrices distinctes (29 juillet 2016). La ligne directrice de l'OCDE N°476 cible les systèmes basés sur le locus HPRT, alors que la ligne directrice de l'OCDE N°490 porte sur le locus TK.

Les témoins positifs ont induit des augmentations des taux de mutation avec et sans S9 confirmant l'activité du S9-mix et la sensibilité de l'essai.

Dans les conditions de cet essai, le MMB montre une absence de potentiel mutagène *in vitro* sur cellules de mammifère, avec et sans S9.

3.4.2.4. Test d'aberration chromosomique sur cellules de mammifères

Un test d'aberration chromosomique a été réalisé avec le MMB (lot 22517, pureté : 99,19%) sur cellules de poumons de hamster chinois CHL/IU, avec et sans activation métabolique (S9 de foies de rats traités avec un mélange de phénobarbital/5,6-benzoflavone). Ce test permet de rechercher si le produit présente une activité clastogène (aberrations structurales des chromosomes) et/ou aneugène (changement du nombre de chromosomes). Le MMB a été testé en solution dans de l'eau distillée.

Le test a été réalisé conformément aux « Test methods on new chemical substances (Kanpogyo No. 237, Yakuhatsu No. 306, 62, Kikyoku No. 303, March 31, 1987, Kanpoan No. 287, Eisei No. 127: partial amendment, October 31, 1997, Kikyoku No. 2: October 31, 1997) » et à la ligne directrice de l'OCDE N°473 en vigueur lors de la réalisation de l'étude (2002), et en suivant les BPL. D'après la synthèse réalisée par l'ECHA, cette étude est de bonne qualité car elle a été notée « fiable sans restriction » d'après la cotation de Klimisch (cotation 1).

Essai préliminaire de cytotoxicité

Un essai préliminaire de toxicité a été réalisé afin de déterminer les doses à utiliser dans l'essai principal. Une gamme de 6 doses allant de 0,038 à 1,2 mg/mL a été testée pendant un traitement court (6h de traitement +18h de recouvrement, avec et sans S9) et un traitement long (24h, sans S9).

Aucune cytotoxicité n'a été mise en évidence (pas de diminution du taux de croissance cellulaire relatif) à toutes les doses testées et pour les 2 schémas de traitement. La dose maximale retenue pour l'essai de génotoxicité est donc de 1,2 mg/mL (10 mM).

Essai principal de génotoxicité

L'étude principale de génotoxicité a été réalisée dans 2 essais indépendants (un traitement court de 6h +18h de recouvrement avec et sans S9 et un traitement long de 24h sans S9) avec 3 doses de 0,30 , 0,60 et 1,2 mg/mL. Une évaluation de la cytotoxicité (taux de croissance cellulaire et indice mitotique) a été effectuée en parallèle. Des témoins négatifs (solvant : eau distillée) et positifs de référence (mitomycine C et cyclophosphamide) ont été inclus dans chaque essai.

Résultats

Aucun effet cytotoxique n'a été relevé.

Après un temps court de traitement, les résultats ne montrent aucune augmentation de la fréquence d'aberrations chromosomiques avec et sans activation métabolique. Seule une très

légère augmentation statistiquement significative de la fréquence de cellules polyploïdes (1,13%) a été mise en évidence à la plus forte dose avec S9-mix mais suffisamment faible pour être considérée comme biologiquement non significative.

Après un temps long de traitement, aucune aberration structurale ou numérique n'a été relevée.

Commentaires du GT ESPA :

Sur le plan expérimental, le test d'aberration chromosomique *in vitro* a été correctement effectué (2 essais indépendants dont un traitement court avec et sans S9 et un traitement long sans S9, a minima 3 doses testées, duplicat/dose, dose maximale testée recommandée de 10 mM dans le cas d'un produit non cytotoxique...).

Sur le plan méthodologique, certaines informations sont manquantes (données de stabilité et d'homogénéité de l'élément d'essai dans le véhicule, contrôles des concentrations dans les solutions de traitement, valeurs des témoins historiques...). Cependant, l'étude ayant été réalisée en suivant les BPL, on peut supposer que ces informations sont existantes mais n'ont pas été incluses dans le rapport d'étude correspondant. Cela ne remet donc pas en cause l'intégrité de l'étude.

Malgré l'absence de données historiques pour les témoins négatifs notamment (nombre et types d'aberrations chromosomiques spontanées), on peut supposer que l'augmentation du nombre de cellules polyploïdes (1,13%) est effectivement suffisamment faible pour être biologiquement non significative.

Le potentiel génotoxique du MMB a été évalué dans le test d'aberration chromosomique sur cellules CHL/IU conformément à la ligne directrice de l'OCDE N°473 en vigueur lors de la réalisation de l'étude (2002) et dans le respect des principes des BPL.

Les témoins positifs ont induit des augmentations de la fréquence d'aberrations chromosomiques avec et sans S9 confirmant l'activité du S9-mix et la sensibilité des cellules utilisées.

Dans les conditions expérimentales de cette étude (temps de traitement court (6h + 18h de recouvrement, ±S9) et long (24h, S9-)), le MMB ne présente pas de potentiel clastogène ou aneugène.

3.4.3. Etude de toxicité subchronique par voie orale

Une étude de toxicité de 90 jours a été menée chez le rat Sprague-Dawley (mâles et femelles) avec le 3-méthoxy-3-méthylbutanol selon la ligne directrice OCDE N°408. Les rats ont été exposés par gavage à des niveaux de 0 ; 50 ; 250 et 1000 mg de MMB/kg de poids corporel/ jour.

Les examens hématologiques ont montré une augmentation statistiquement significative du nombre des lymphocytes (85,47% contre 79,59% pour le groupe contrôle) et une diminution du nombre des neutrophiles (10,69% contre 15,95% pour le groupe contrôle) chez les mâles exposés à la plus forte dose.

Une augmentation statistiquement significative du temps de prothrombine (22,87s contre 19,82s pour le groupe contrôle) et une diminution statistiquement significative du nombre des réticulocytes (1,63% contre 2,24% pour le groupe contrôle) ont également été observées chez les femelles exposées à la plus forte dose.

Les examens biochimiques ont montré une augmentation statistiquement significative du taux de glucose (10,309 mmol/L contre 8.676 mmol/L pour le groupe contrôle) et de potassium (4,514 mmol/L contre 3,843 mmol/L pour le groupe contrôle) chez les femelles exposées à la plus haute dose.

Aucune différence statistiquement significative n'a été mise en évidence entre le poids absolu et relatif des organes, aussi bien chez les mâles que chez les femelles.

A partir de cette étude, une NOAEL (« No Observed Adverse Effect Level » en anglais, ou dose sans effet nocif observé) de 250 mg/ kg de poids corporel/ jour a été établi sur la base d'une augmentation statistiquement significative du nombre de lymphocytes et d'un nombre moyen de neutrophiles plus faible chez les mâles exposés à la plus forte dose, ainsi que d'un temps de prothrombine plus élevé, une diminution des réticulocytes et un taux de glucose et de potassium plus élevé chez les femelles exposées à la plus forte dose.

Commentaires du GT ESPA :

Le GT remarque que les notions de réversibilité, telles qu'elles sont recommandées dans la ligne directrice OCDE N°408 sont absentes du dossier. Néanmoins, l'absence de cette information ne remet pas en cause l'établissement de la NOAEL à 250 mg/ kg de poids corporel/ jour.

Cette étude est disponible sur le site de l'ECHA dans le dossier d'enregistrement REACH de la substance et a permis de dériver la DNEL (« Derived No-Effect Level » en anglais, ou niveau dérivé sans effet) de 2,5 mg/kg de poids corporel/jour destinée à la population générale exposée par voie orale.

3.4.4. Potentiel de bioaccumulation

D'après le dossier du pétitionnaire, il n'est pas attendu de potentiel de bioaccumulation au vu des paramètres physico-chimiques de la substance (Log P : 0,18).

3.5. Evaluation du risque du MMB

A partir de la NOAEL de 250 mg / kg de poids corporel / jour et suite à l'application de facteurs de sécurité de 4 et 2,5 pour la variabilité inter-espèce, de 10 pour la variabilité intra-espèce et de 2 comme facteur additionnel lié à la durée d'exposition, une dose journalière admissible (DJA) de 1,25 mg/ kg de poids corporel/jour a été retenue.

A partir de la valeur du NET de 4800 µg/personne/jour, des niveaux d'exposition exprimés en mg/ kg de poids corporel/ jour ont été calculés pour 4 classes d'âges différentes. Ces niveaux d'exposition sont respectivement de 0,08 ; 0,20 ; 0,48 et 0,60 mg/ kg poids corporel / jour pour les adultes, les enfants, les enfants en bas âge et les bébés. Ces niveaux d'expositions représentent respectivement 6,4 ; 16 ; 38 et 48% de la DJA pour les adultes, les enfants, les enfants en bas âge et les bébés.

3.6. Conclusions et recommandations du GT ESPA

3.6.1. Concernant les données physico-chimiques

Les caractéristiques physico-chimiques du MMB ont été clairement identifiées au sein de ce dossier. Cependant, 8 NIAS ont été listés par le pétitionnaire et seulement 3 d'entre eux ont été clairement identifiés (données confidentielles).

3.6.2. Concernant les données d'expositions

Au vu des remarques formulées précédemment concernant le calcul du NET, le GT a demandé au pétitionnaire de déterminer à nouveau le NET en suivant l'une des 2 approches explicités ci-dessous :

Scénario théorique pire des cas

Pour cette approche, le pétitionnaire devra suivre les étapes suivantes :

- déterminer la quantité de produit (et donc de MMB) déposé par unité de surface et par jour (exprimé en masse/surface/jour) sur les matériels et surfaces en contact avec les denrées alimentaires ;
- déterminer la surface en contact avec un kilo de denrée alimentaire solide (qui est la quantité journalière d'aliment ingéré par un adulte, pour le calcul par la méthode du budget). Pour ce faire, le GT propose d'utiliser comme aliment modèle des tranches de jambon (aliment offrant de faibles épaisseurs, et donc un rapport élevé 'surface en contact/masse') afin de maximiser le contact aliment/surface et donc l'exposition des consommateurs (pire des cas) ;
- considérer que la substance (MMB) déposée sur les surfaces va se retrouver en totalité dans l'aliment (scénario pire des cas) ; cela sous-entend que la totalité de la substance déposée reste à la surface du plan de travail et que le coefficient de transfert est de 100% ;
- déterminer, à partir de ces hypothèses, la quantité de substance (MMB) par kilo d'aliment.

Approche expérimentale

Pour cette approche, le pétitionnaire devra proposer un protocole standardisé pour le rinçage et les mesures analytiques. Le GT suggère au pétitionnaire de suivre les étapes suivantes :

- déposer la quantité de produit nécessaire et suffisante sur une surface de travail d'aire connue telle que spécifié dans la note d'emploi.
- proposer un protocole de rinçage standardisé (en précisant le volume d'eau utilisé à chaque rinçage, rapporté à l'aire de la surface rincée, la pression du jet, le temps de rinçage, etc.). Suite au premier rinçage, un second rinçage sera effectué et l'eau de ce second rinçage sera récoltée afin de déterminer la quantité de MMB désorbé de la surface traitée. La quantité de MMB dans l'eau de deuxième rinçage correspond aux résidus non éliminés lors du premier rinçage. Plusieurs rinçages successifs seront réalisés afin de déterminer des cinétiques de désorption du MMB (jusqu'à 3 rinçages successifs, si nécessaire, pour refléter une pratique industrielle usuelle). Le pétitionnaire proposera un bilan massique du MMB (i) déposé, (ii) éliminé au cours des rinçages successifs, et par différence : (iii) une estimation du MMB résiduel après rinçages sur la surface en contact avec les denrées alimentaires.
- les quantités de MMB dans les eaux de rinçage seront mesurées par une technique analytique qui devra être décrite avec précision et dont les performances devront être caractérisées. Le GT propose comme méthode analytique l'analyse de l'espace de tête par chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse (Headspace GC-MS). A minima, trois répétitions analytiques par rinçage seront effectuées afin que le pétitionnaire puisse calculer des moyennes et des écarts-types.
- à partir des quantités moyennes de MMB résiduel par unité de surface mesurées expérimentalement, de la surface en contact avec un kilo d'aliment et d'un taux de transfert du MMB de la surface vers l'aliment de 100 %, déterminer la quantité résiduelle potentiellement transférée de MMB par kilo d'aliment.

3.6.3. Concernant les études de toxicologie

Les études toxicologiques réalisées sur le MMB ne montrent pas de potentiel mutagène (sur bactéries et cellules de mammifère) ni de potentiel clastogène ou aneugène *in vitro*. L'étude de toxicité sub-chronique de 90 jours menée chez le rat a permis de déterminer une NOAEL de 250 mg/kg poids corporel / jour à partir de laquelle a été calculée une DJA pour le MMB de 1,25 mg/kg de poids corporel/jour.

Dans son dossier, le pétitionnaire a référencé 8 NIAS pour lesquelles aucun NET ni aucune donnée toxicologique n'ont été fournis. Au vu des NET calculés par le GT, le pétitionnaire aurait dû fournir des données QSAR provenant de deux modèles prédictifs différents pour 2 de ces NIAS et a minima 2 tests de génotoxicité *in vitro* (1 test d'Ames et 1 test du micronoyau *in vitro*) pour les 6 autres NIAS.

Le GT estime que les NIAS sont systématiquement présents au sein de la substance MMB (objet de la demande) et donc testés en même temps que cette dernière (le % d'impuretés étant variable d'un lot à l'autre, le pétitionnaire devra le rappeler systématiquement). Cependant, d'après les calculs du GT, les niveaux de doses de ces NIAS employés pour le test d'Ames équivalraient à des valeurs variant de 0,35 à 17,5 µg/boîte. Ces doses ne sont pas suffisantes car inférieures à la dose minimale de 250 µg/boîte devant être utilisée pour mettre en évidence le caractère mutagène des substances dans le test d'Ames (Müller 2006 et Kenyon 2007).

Dans ce contexte, le pétitionnaire devra fournir les données QSAR et de génotoxicité *in vitro* telles que mentionnées précédemment. Le pétitionnaire devra dans un premier temps identifier les 5 impuretés non identifiées. Dans le cas où l'identification de ces substances s'avère impossible, le pétitionnaire pourra évaluer le mélange des impuretés non identifiées en suivant les lignes directrices publiées par l'Efsa (Genotoxicity assessment of chemical mixtures, Efsa 2018).

3.6.4. Conclusion générale

En l'absence des données requises pour l'évaluation du risque mentionnées dans les paragraphes conclusions et recommandations ci-dessus, le GT ESPA n'est pas en mesure de se prononcer sur l'innocuité du MMB en vue de son utilisation dans les produits de nettoyage des matériaux destinés à entrer en contact avec des denrées alimentaires pour son inscription sur la liste positive de l'arrêté du 8 septembre 1999.

4. CONCLUSIONS ET RECOMMANDATIONS DE L'AGENCE

L'Agence nationale de sécurité sanitaire de l'alimentation, de l'environnement et du travail adopte les conclusions du GT ESPA. L'Anses note que la procédure d'évaluation n'a pas pu être menée à son terme par absence de fourniture, par le pétitionnaire, d'éléments attendus par les experts pour se prononcer sur la sécurité d'emploi du produit dans son usage de nettoyage de matériaux au contact des denrées alimentaires.

Dr Roger GENET

MOTS-CLES

MMB ; Arrêté du 8 septembre 1999 ; Produits de nettoyage.

KEYWORDS

MMB ; French decree of the 8th of septembre 1999 ; Cleaning products.

BIBLIOGRAPHIE

Avis de l'Anses (n° 2011-SA-0081) relatif à la révision des lignes directrices pour l'évaluation des risques pour l'homme des constituants des produits de nettoyage des matériaux et objets destinés au contact avec des denrées alimentaires.

Arrêté du 8 septembre 1999 relatif aux procédés et produits utilisés pour le nettoyage de matériaux et objets destinés à entrer au contact des denrées, produits et boissons pour l'alimentation de l'homme et des animaux.

Instruction du 27 août 1986 relative aux demandes d'autorisation d'emploi des constituants dans des produits destinés au nettoyage de matériaux pouvant être mis au contact d'aliments.

Kenyon MO et al. Regulatory Toxicology and Pharmacology 48 (2007) 75–86.

Müller L et al. Regulatory Toxicology and Pharmacology 44 (2006) 198–211.