

Maisons-Alfort, le 12 juin 2015

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

relatif à une demande d'appui scientifique et technique relatif à la migration de diméthylphtalate (DMP) à partir de matériaux et objets destinés au contact des denrées alimentaires contenant un liquide luminescent

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 25 août 2014 par la Direction Générale de la Concurrence, de la Consommation et de la Répression des Fraudes (DGCCRF) d'une demande d'appui scientifique et technique relatif à la migration de diméthylphtalate (DMP) à partir de matériaux et objets destinés au contact des denrées alimentaires contenant un liquide luminescent.

1. CONTEXTE ET OBJET DE LA SAISINE

Un contrôle officiel sur le marché en 2014 portant sur une paille contenant un flotteur (capsule) avec un liquide luminescent a révélé la migration de diméthylphtalate (DMP, n° CAS 131-11-3) dans des conditions de test représentant « le pire des cas raisonnablement prévisible » prévus par la réglementation des matières plastiques destinées à entrer en contact avec des denrées alimentaires (règlement (UE) n°10/2011).

Le DMP n'est pas listé dans le règlement (UE) n°10/2011¹ (ou dans toute autre réglementation relative aux MCDA²). Toutefois, cette substance présente dans le mélange luminescent n'a pas été incorporée au moment de la formulation de la matière plastique constitutive de la paille. Cette substance n'est donc pas un additif au sens du règlement (UE) n°10/2011.

Le DMP n'est pas classé selon le règlement (CE) n°1272/2008 (dit règlement CLP³). Les données disponibles sur le site de l'ECHA indiquent, *a priori*, que la substance ne répond pas aux critères de

¹ Règlement (CE) n°10/2011 de la Commission du 14 janvier 2011 concernant les matériaux et objets en matière plastique destinés à entrer en contact avec les denrées alimentaires

² matériaux et objets au contact des denrées alimentaires

³ Le règlement CLP (*en anglais : Classification, Labelling, Packaging*) désigne le règlement (CE) n° 1272/2008 du Parlement européen relatif à la classification, à l'étiquetage et à l'emballage des substances chimiques et des mélanges.

classement. Le DMP n'est pas inscrit à l'annexe XIV⁴ du règlement REACH, ni présent sur la liste des substances candidates à l'inscription de cette annexe.

Les informations sur la dangerosité du DMP sont jugées insuffisantes par la DGCCRF pour mener une analyse de risque afin de s'assurer du respect de l'article 3⁵ du règlement cadre (CE) n°1935/2004 relatif aux MCDA.

2. ORGANISATION DE L'EXPERTISE

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

L'expertise collective a été réalisée conjointement par le groupe de travail pérenne (GT) « Évaluation des substances et procédés soumis à autorisation en alimentation humaine » (GT ESPA), réuni le 18 septembre 2014, le 19 février 2015, le 19 mars 2015 et le 16 avril 2015, les comités d'experts spécialisés « Caractérisation des dangers des substances et valeurs toxicologiques de référence » (Substances) et « Evaluation des risques chimiques dans l'alimentation » (ERCA) réunis respectivement les 12 mars 2015 et 15 avril 2015.

Le projet d'analyse et conclusions a fait l'objet d'une validation par le CES ERCA le 20 mai 2015.

3. ANALYSE ET CONCLUSIONS DU GT ESPA, DU CES SUBSTANCES ET DU CES ERCA

Le diméthylphtalate (DMP, C₁₀H₁₀O₄, n°CAS 131-11-3) se présente sous la forme d'un liquide visqueux incolore, peu volatil. Il est utilisé pour jouer le rôle de plastifiant dans la formulation de certaines matières plastiques à usage non alimentaire. En effet, le DMP fait partie des phtalates ne figurant dans aucune réglementation relative aux matériaux destinés au contact des denrées alimentaires. De ce fait, il ne peut être utilisé dans la formulation de matériaux entrant en contact direct avec les aliments.

Peu d'études sur la toxicité du DMP administré par voie orale sont disponibles dans la littérature. De plus, celles-ci s'avèrent souvent être imprécises et peu documentées. Une seule étude long-terme (2 ans, chez le rat femelle) par voie orale a été identifiée. Celle-ci est très ancienne (Lehman 1955), insuffisamment décrite et non conçue pour évaluer les effets cancérigènes ou reprotoxiques du DMP. D'autres études, plus récentes, ont été effectuées sur des périodes très courtes (< 4 semaines) qui permettent uniquement d'avoir un avis sur la toxicité subchronique du DMP.

Résumé des études de toxicocinétique

Les résultats issus des études expérimentales chez l'animal indiquent que le DMP est absorbé rapidement et intensivement par le tractus gastro-intestinal. Il est largement distribué dans les tissus après absorption, puis rapidement éliminé de l'organisme, principalement sous forme de métabolites dans les urines (rapport CPSC-D-06-0006, 2011).

Le monométhyl phtalate (MMP) et l'acide phtalique sont respectivement les métabolites majeur (77,5% des phtalates retrouvés) et mineur (14,4% des phtalates retrouvés) identifiés dans les urines après administration orale de DMP chez des rats mâles. Les résultats des études *in vitro* indiquent que le DMP est hydrolysé en MMP par des homogénats de foie et par des préparations

⁴ L'ECHA hiérarchise les substances de la liste des substances candidates afin de déterminer celles qui doivent être incluses dans la liste d'autorisation (annexe XIV de REACH) et donc soumises à autorisation.

⁵ L'article 3 du règlement (CE) 1935/2004 stipule que les matériaux et objets, y compris les matériaux et objets actifs et intelligents, doivent être fabriqués conformément aux bonnes pratiques de fabrication afin que dans des conditions normales ou prévisibles de leur emploi, ils ne cèdent pas aux denrées des constituants en une quantité susceptible :

- de présenter un danger pour la santé humaine ;
- d'entraîner une modification inacceptable de la composition de la denrée ;
- d'altérer les propriétés organoleptiques de la denrée alimentaire.

de cellules de muqueuse intestinale y compris humaines. Aucune information n'est disponible concernant les différences dans l'absorption et la biodisponibilité du DMP par voie orale entre animaux adultes et immatures, ou entre les animaux et l'Homme.

Analyse des dangers

Toxicité aiguë

Des études d'expositions aiguës par voie orale et cutanée au DMP ont permis d'estimer la DL₅₀⁶ à une dose supérieure à 2000 mg.kg⁻¹ quelles que soient les espèces utilisées. Les données expérimentales sur animaux sont suffisantes pour conclure que le DMP ne présente pas de toxicité aiguë par voie orale ou par voie cutanée au regard des définitions figurant dans le règlement CLP (CE) n°1272/2008.

Toxicités subchronique et chronique

Les études⁷ relatives à des expositions orales à moyen et à long terme au DMP montrent des diminutions du gain de poids corporel, des changements dans le taux d'hémoglobine et des augmentations des poids, absolu et relatif, du foie accompagnées de plusieurs changements dans les paramètres biochimiques (augmentation des taux de la phosphatase alcaline probablement due aux cellules hépatiques endommagées, et réduction des taux de lipides totaux hépatiques et du cholestérol). Les études permettent de conclure qu'il y a des preuves suffisantes chez l'animal pour qualifier le DMP d'hépatotoxique. Ces études sont détaillées ci-dessous.

Plusieurs doses sans effet nocifs observables (DSENO ou NOAEL en anglais) après administration orale allant de 107 à 1862 mg.kg pc⁻¹.j⁻¹ ont été déterminées d'après des études à court-terme (4 jours à 4 semaines).

Une seule étude de 2 ans par exposition orale chez les rats femelles traités avec 0, 2, 4, ou 8% de DMP⁸ dans l'alimentation a été identifiée (Lehman, 1955). Sur la base d'une diminution du gain de poids corporel (non quantifiée) chez le rat femelle pour les groupes exposés à 4 et 8% de DMP, des DSENO et DMENO⁹ de 1834 et 3666 mg.kg pc⁻¹.j⁻¹ ont été déterminées.

Reprotoxicité et toxicité sur le développement

Aucune preuve de toxicité sur le développement n'a été rapportée lors d'une étude standard de développement chez des rates Sprague-Dawley gravides exposées jusqu'à 5% de DMP dans l'alimentation (~ 3600 mg.kg pc⁻¹.j⁻¹) sur la période de gestation (J6-J15 ; Field, 1993 ; NTP,1989) ou dans une étude de l'appareil reproducteur chez les descendants mâles de rates Sprague-Dawley exposées par gavage à 750 mg.kg pc⁻¹.j⁻¹ sur la période allant du jour 14 de gestation à 3 jours après la naissance (Gray, 2000). Des études chez la souris CD-1 gravides exposées à 3500 ou 5000 mg.kg pc⁻¹.j⁻¹ sur la période de gestation (J6-J13) n'ont montré aucun effet sur la survie ou sur le poids corporel des petits ou sur le nombre de fœtus présentant des anomalies.

Lorsqu'il est administré par d'autres voies que la voie orale, aucune preuve d'effets embryotoxiques ou tératogènes liés à l'exposition n'a été observée chez des rates gravides exposées à des doses allant jusqu'à ~ 2380 mg.kg pc⁻¹.j⁻¹ de DMP sur les périodes de gestation (J6-J15 ou J1-J20). En revanche, des injections par voie intra-péritonéale de doses de 400 mg.kg pc⁻¹.j⁻¹ chez des rates Sprague-Dawley gravides aux jours 5, 10 et 15 de gestation ont induit une diminution du poids des fœtus, une augmentation des résorptions et une augmentation du pourcentage de fœtus atteints de malformations squelettiques (Plasterer, 1985).

Aucun effet clair vis-à-vis des paramètres de l'appareil reproducteur n'a été rapporté dans les études chez les jeunes rats sexuellement immatures suite à une exposition au DMP par voie orale, y compris sur des rats Sprague-Dawley exposés à 500 mg.kg pc⁻¹.j⁻¹ pendant 4 semaines (Kwack, 2009, gavage) ou à 1400 mg.kg pc⁻¹.j⁻¹ pendant 4 jours (Foster,1980, gavage), ou chez des rats

⁶ Dose létale 50 : indicateur mesurant la dose de substance causant la mort de 50 % d'une population animale donnée (souvent des souris ou des rats) dans des conditions d'expérimentation précises.

⁷ Kwack (2009) ; Bell (1978) ; Oishi et Hiraga (1980) ; Foster (1980).

⁸ Doses correspondantes : 1834, 3668 et 7336 mg.kg pc⁻¹.j⁻¹

⁹ DMENO : dose minimale avec effet nocif observé (LOAEL en anglais)

Wistar exposés à 2% (~ 1862 mg.kg pc⁻¹.j⁻¹) de DMP dans le régime alimentaire pendant 1 semaine (Oishi, 1980).

Des DSENO¹⁰ orales maternelles chez les rongeurs allant de 750 à 3500 mg.kg pc⁻¹.j⁻¹ ont été déterminées.

A la différence de la toxicité maternelle, une exposition au DMP n'induit pas (ou très peu) d'effet sur les paramètres développementaux embryonnaires/fœtaux (DSENO après administrations orales pour le développement de 750 à 5000 mg.kg pc⁻¹.j⁻¹ et DSENO pour la tératogenèse de 2400 mg.kg pc⁻¹.j⁻¹) :

Aucune étude simple ou multigénérationnelle de toxicité pour la reproduction menée sur des animaux exposés au DMP n'a été effectuée. Seules des études d'embryotoxicité / foetotoxicité et de tératogenèse sont disponibles. Dans ces études de développement standards, si une toxicité maternelle est observée, aucune preuve de toxicité sur le développement n'a été rapportée après un traitement au DMP quel que soit le paramètre du développement embryonnaire/fœtal. Les comités ont estimé que le « poids de la preuve » apporté par l'ensemble de ces études ne permet pas de qualifier le DMP comme "toxique ou non toxique pour le développement".

Génotoxicité

Seuls quelques tests de génotoxicité et de mutagenèse standards testant le DMP ont été identifiés. En ce qui concerne les tests de mutation génique *in vitro*, des effets significatifs ont été obtenus à la fois chez la bactérie au cours de plusieurs tests d'Ames en absence d'activation métabolique et au niveau de cellules de mammifères au cours d'un test MLA/TK mais en présence d'activation métabolique uniquement à la concentration maximale testée. Plusieurs études menant à des résultats négatifs sont entachées d'erreurs méthodologiques (doses trop faibles, systèmes d'essai peu appropriés, tests trop peu sensibles et/ou non standards...). En ce qui concerne les résultats *in vivo*, les tests négatifs pourraient se révéler peu ou pas pertinents. En effet, lors de ces tests (*in vivo*), les paramètres évalués (dominant létal et induction de micronoyaux) sont dédiés à des lésions chromosomiques. Or, les essais *in vitro* ont mis en évidence des mutations géniques ponctuelles. De plus, les organes étudiés (cellules germinales ou de moelle osseuse) ne correspondent pas nécessairement à des organes cibles. En outre, aucune preuve de l'exposition n'est apportée. Par ailleurs, le DMP donne des résultats *in vivo* équivoques dans un test des aberrations chromosomiques au niveau des cellules de foies de rats exposés par voie cutanée pendant un mois. Ce résultat pourrait être corrélé à la réponse positive observée dans le test MLA/TK positif après activation métabolique. Ce test n'a cependant aucune ligne directrice spécifique.

Dans l'ensemble, les alertes observées dans les tests de mutagenèse *in vitro* ne sont pas "confirmés" par des résultats pertinents négatifs obtenus sur des tests *in vivo* validés. Ces données limitées ne permettent donc pas de conclure quant à l'absence d'un potentiel mutagène ou génotoxique du DMP.

Cancérogénicité

Dans un modèle d'initiation/promotion de cancérogenèse cutanée sur 1 an, le DMP non dilué appliqué par voie dermique chez la souris mâle Swiss CD-1 n'a pas présenté d'activité initiatrice ou promotrice de cancérogenèse cutanée.

Par ailleurs, aucune étude de cancérogenèse exposition vie entière adéquate n'est disponible pour le DMP. En conclusion, Les données expérimentales sont insuffisantes pour évaluer le potentiel cancérogène du DMP.

¹⁰ DSENOs orales maternelles recensées dans la littérature : 800 mg.kg pc⁻¹.j⁻¹ chez des rates Sprague-Dawley (Field, 1993; NTP 1989) ; 750 mg.kg pc⁻¹.j⁻¹ chez des rates Sprague-Dawley (Gray, 2000), 3500 mg.kg pc⁻¹.j⁻¹ chez des souris CD-1 (Hardin, 1987; Plasterer, 1985).

4. CONCLUSIONS DU GT ESPA, DU CES ERCA ET DU CES SUBSTANCE

Les comités souhaitent rappeler que le DMP ne doit pas être utilisé pour la production de matériaux et objets destinés à entrer en contact avec des aliments, puisque cette substance peut migrer au travers de ces matériaux et ainsi venir contaminer les aliments.

Dans la littérature, seules quelques doses sans effet nocif observé (DSENO) et des doses avec effet nocif observé (DMENO) issues d'études peu fiables ont été identifiées pour des effets sur le développement et des effets systémiques à des doses répétées mais sur de courtes durées (< 4 semaines). Ainsi, au regard de l'ensemble des données disponibles, les comités considèrent qu'il n'est pas possible de proposer une valeur toxicologique de référence pour des expositions chroniques au DMP.

Ils estiment que des études de génotoxicité *in vivo* seraient nécessaires pour lever les doutes liés aux résultats des tests *in vitro*. De plus, ils considèrent que des nouvelles données issues d'études expérimentales (après administration orale) et sur plusieurs types d'effet (effets systémiques, effets pour la reproduction et le développement, effet cancérigène...) seraient essentielles pour compléter les données et permettre d'établir, *in fine*, une VTR.

5. 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, du CES Substances et du CES ERCA.

Le directeur général

Marc Mortureux

MOTS-CLES

Phtalate, diméthylphtalate, DMP, valeur toxicologique de référence

BIBLIOGRAPHIE

American Conference of Governmental Industrial Hygienists. Documentation of the TLV's and BEI's with Other World Wide Occupational Exposure Values. CD-ROM Cincinnati, OH 45240-1634 2007.

Bell FP, Patt CS, Brundage B, Gillies PJ, Phillips WA. Studies on lipid biosynthesis and cholesterol content of liver and serum lipoproteins in rats fed various phthalate esters. *Lipid*, 1978, 13, 66-74.

Field EA, Price CJ, Sleet RB, George JD, Marr MC, Myers CB, Schwetz BA, Morrissey RE. Developmental toxicity evaluation of diethyl and dimethyl phthalate in rats. *Teratology*. 1993 Jul; 48(1):33-44.

Fierens T, Vanermen G, Van Holderbeke M, De Henauw S, Sioen I. Effect of cooking at home on the levels of eight phthalates in foods. *Food Chem Toxicol*. 2012 Dec; 50(12):4428-35.

Floyd EP, Stokinger HE. Toxicity studies of certain organic peroxides and hydroperoxides. *Am Ind Hyg Assoc J*. 1958 Jun; 19(3):205-12.

Foster PMD, Thomas LV, Cook MW, Gangoli SD, Study of the testicular effects and changes in zinc excretion produced by some n-alkyl phthalates in the rat. *Toxicology and Applied Pharmacology*, 1980, 54, 392-398.

Gray, LE, Jr.; Ostby, J; Furr, J; et al. Perinatal exposure to the phthalates DEHP, BBP, and DINP, but not DEP, DMP, or DOTP, alters sexual differentiation of the male rat. *Toxicol Sci* 2000 58(2):350–365.

Hansen E, Meyer O. No embryotoxic or teratogenic effect of dimethyl phthalate in rats after epicutaneous application. *Pharmacol Toxicol*. 1989 Feb; 64(2):237-8.

Kozumbo WJ, Rubin RJ. Mutagenicity and metabolism of dimethyl phthalate and its binding to epidermal and hepatic macromolecules. *J Toxicol Environ Health*. 1991 May; 33(1):29-46.

Kwack, SJ; Kim, KB; Kim, HS; et al. Comparative toxicological evaluation of phthalate diesters and metabolites in Sprague-Dawley male rats for risk assessment. *J Toxicol Environ Health* 2009 72(21–22):1446–1454.

Lehman, AJ. (1955) Insect repellents. *Q Bull Assoc Food Drug Off US* 19:87–99.

Loveday KS, Anderson BE, Resnick MA, Zeiger E. Chromosome aberration and sister chromatid exchange tests in Chinese hamster ovary cells *in vitro*. V: Results with 46 chemicals. *Environ Mol Mutagen*. 1990; 16(4):272-303.

NTP Toxicology and Carcinogenesis Studies of Diethylphthalate (CAS No. 84-66-2) in F344/N Rats and B6C3F1 Mice (Dermal Studies) with Dermal Initiation/ Promotion Study of Diethylphthalate and Dimethylphthalate (CAS No. 131-11-3) in Male Swiss (CD-1(R)) Mice. *Natl Toxicol Program Tech Rep Ser*. 1995 May; 429:1-286.

National Industrial Chemicals Notification and Assessment Scheme (NICNAS). Priority Existing Chemical Assessment Report No. 37. Dimethyl phthalate. January 2014.

Oishi S, Hiraga K. Testicular atrophy induced by phthalic acid esters: Effect on testosterone and zinc concentrations. *Toxicology and Applied Pharmacology*, 1980, 53, 35-41.

Plasterer MR, Bradshaw WS, Booth GM, Carter MW, Schuler RL, Hardin BD. Developmental toxicity of nine selected compounds following prenatal exposure in the mouse: naphthalene, p-nitrophenol, sodium selenite, dimethyl phthalate, ethylenethiourea, and four glycol ether derivatives. *J Toxicol Environ Health*. 1985;15(1):25-38.

Rapport CPSC-D-06-0006, 2011, U.S. Consumer Product Safety Commission. Final toxicity review for dimethyl phthalate (DMP, CASRN 131-11-3). Prepared by Versar Inc. and SRC Inc. for the U.S. Consumer Product Safety Commission (US CPSC). July 19, 2011.

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

Règlement (CE) N° 1272/2008 du Parlement Européen et du Conseil du 16 décembre 2008 relatif à la classification, à l'étiquetage et à l'emballage des substances et des mélanges, modifiant et abrogeant les directives 67/548/CEE et 1999/45/CE et modifiant le règlement (CE) no 1907/2006.

Scientific Committee on Consumer Products (SCCP) opinion on phthalates in cosmetic products (SCCP/1016/06, 2007).

Walseth F, Toftgård R, Nilsen OG. Phthalate esters I: Effects on cytochrome P-450 mediated metabolism in rat liver and lung, serum enzymatic activities and serum protein levels. *Arch Toxicol*. 1982 May; 50(1):1-10.

Zeiger E, Haworth S, Mortelmans K, Speck W. Mutagenicity testing of di(2-ethylhexyl)phthalate and related chemicals in Salmonella. *Environ Mutagen*. 1985; 7(2):213-32.