

anses

agence nationale de sécurité sanitaire
alimentation, environnement, travail



Connaître, évaluer, protéger

Elaboration de VTR chronique par voie respiratoire pour l'octaméthylcyclo- tétrasiloxane

Avis de l'Anses

Rapport d'expertise collective

Septembre 2017

Édition scientifique



anses

agence nationale de sécurité sanitaire
alimentation, environnement, travail



Connaître, évaluer, protéger

Elaboration de VTR chronique par voie respiratoire pour l'octaméthylcyclo- tétrasiloxane

Avis de l'Anses

Rapport d'expertise collective

Septembre 2017

Édition scientifique

Le Directeur général

Maisons-Alfort, le 29 septembre 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
l'octaméthylcyclotétrasiloxane (D4) (n° CAS 556-67-2)

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 l'octaméthylcyclotétrasiloxane (D4).

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 l'octaméthylcyclotétrasiloxane (D4). Pour ce faire, un profil toxicologique a été réalisé. Le D4 possède de très larges applications : matière première cosmétique, biocides, ingrédient de formulation phytosanitaire...

Au regard des très larges applications du D4 et de sa classification comme reprotoxique de catégorie 2, l'Anses a souhaité valoriser le travail réalisé en proposant une valeur toxicologique de référence, ou VTR, par inhalation pour ce composé. Une 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 février 2014 et octobre 2016. Ils ont été adoptés par le CES « Substances » réuni le 20 octobre 2016.

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 D4 provient d'études conduites chez l'animal.

La limite de concentration de la phase vapeur du D4 ayant été identifiée à 700 ppm (soit 8400 mg.m⁻³), dans la majorité des études sur le D4 cette concentration n'est pas dépassée.

Toxicocinétique

Selon les études disponibles, l'absorption du D4 par inhalation varie entre 4 et 13%. Ainsi, dans une étude sur 12 volontaires exposés au D4, l'absorption en période de repos est de 11% et en période d'exercice de 6% (Utell *et al.*, 1998). Le D4 est très faiblement absorbé par voie cutanée (<1%).

Concernant la métabolisation dans les études conduites chez des volontaires et chez des rats, le D4 a été mesuré sous forme non-métabolisée dans l'air expiré, alors que dans l'urine, seules les

formes métabolisées ont été mesurées (Plotzke *et al.* 2000; Reddy *et al.* 2003). Les deux métabolites majeurs identifiés dans l'urine chez le rat sont le diméthylsilanediol ($\text{Me}_2\text{Si}(\text{OH})_2$) et le méthylsilanetriol ($\text{MeSi}(\text{OH})_3$). Ils représentent entre 75 et 85% des métabolites urinaires (SCCS¹, 2010).

Les principales voies d'élimination du D4 sont d'abord l'air expiré, puis la voie urinaire dans un second temps.

Toxicité

Plusieurs effets ont été observés dans les différentes études disponibles sur le D4 :

- **Effets hépatiques** : les effets hépatiques sont les effets les plus fréquemment observés dans les études réalisées sur le D4. 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 est associée, dans l'étude de Burns-Naas *et al.* (2002), à une forte augmentation sérique des gamma glutamyl transférases (γ -GT) à la plus forte concentration chez les mâles (168%), et aux deux plus fortes concentrations chez les femelles (330% à 5856 mg.m^{-3} et 975% à 10776 mg.m^{-3}), ainsi qu'à une légère augmentation des alanines aminotransférases (ALT) à la plus forte concentration dans les deux sexes (mâles : 26%, femelles : 15%). Des lésions histopathologiques ne sont cependant pas observées dans cette étude. Dans son guide sur les effets hépatiques, l'US EPA² (2002), précise que l'augmentation des ALT ne devrait pas être considérée néfaste avant d'avoir atteint 2 ou 3 fois les niveaux observés dans le groupe contrôle. L'US EPA précise également qu'en l'absence de lésions histopathologiques, les niveaux sériques d'au moins deux paramètres sériques devraient être significativement augmentés pour qu'ils puissent être assimilés à une toxicité hépatique. En conséquence, le manque de reproductibilité de cette augmentation des γ -GT entre les études, et le fait que cette augmentation ne soit pas associée à d'autres modifications de paramètres biochimiques ou histopathologiques dans l'étude de Burns-Naas *et al.* (2002) serait donc en faveur d'un effet adaptatif du foie, et non d'une toxicité ;
- **Effets respiratoires** : les effets respiratoires observés (hyperplasie des cellules caliciformes, hyperplasie de l'épithélium squameux, augmentation de l'incidence de globules éosinophiles dans le tractus respiratoire...) sont des effets locaux peu spécifiques, liés à l'anatomie du rat. En effet, chez les rats, l'épithélium olfactif est beaucoup plus développé que chez l'Homme, ce qui rend donc ces effets difficilement transposables à l'Homme ;
- **Effets rénaux** : les effets sur le rein ne montrent pas de relation dose-réponse, et aucun marqueur sérique ne permet de prouver une altération fonctionnelle ;
- **Toxicité pour la reproduction** : deux études sont disponibles pour évaluer les effets reprotoxiques du D4 (Meeks *et al.*, 2007 ; Siddiqui *et al.*, 2007). Elles présentent entre elles une grande cohérence de résultats. Le nombre de corps jaunes est diminué, mais cet effet est difficilement exploitable : il est en effet difficile d'établir une relation dose-réponse.

Les effets retenus sont donc : une diminution du nombre de sites d'implantations et une diminution du nombre de fœtus viables, statistiquement significatifs au moins à la plus forte

¹ SCCS : Scientific Committee on Consumer Safety/Comité Scientifique pour la Sécurité des Consommateurs

² US EPA : US Environmental Protection Agency/Agence américaine pour la protection de l'environnement

dose (8400 mg.m⁻³), et présentant une relation dose-réponse. Ces effets, observés dans les deux études ne peuvent être exclus chez l'Homme.

Elaboration d'une VTR chronique par inhalation

Analyse des VTR existantes

Aucune VTR n'existe à ce jour pour le D4.

Choix de l'effet critique

Concernant les effets sur la reproduction, les deux paramètres pour lesquels une significativité statistique et une relation dose-réponse apparaissent ont été analysés : diminution du nombre de sites d'implantations et diminution du nombre de fœtus viables.

Suite à la construction de « benchmark concentrations » (BMC) à partir des études de Meeks *et al.* (2007) et Siddiqui *et al.* (2007), la diminution du nombre de sites d'implantation semble survenir à une concentration légèrement plus basse que la diminution du nombre de fœtus viables. Ce paramètre a donc été retenu pour la construction d'une VTR (cf. tableau 1).

Choix de l'étude clé

Deux études mettent en évidence une diminution de nombre de sites d'implantation chez le rat avec des résultats très comparables : Siddiqui *et al.* (2007) et Meeks *et al.* (2007).

Les doses d'exposition sont identiques dans ces deux études : 0, 840, 3600, 6000 et 8400 mg.m⁻³. Les protocoles d'exposition sont cependant légèrement différents. Dans l'étude de Siddiqui *et al.* (2007), 30 rats par sexe et par dose ont été exposés pendant 70 jours avant l'accouplement jusqu'au sevrage. Dans l'étude de Meeks *et al.* (2007), 20 rats femelles par dose ont été exposées avant l'accouplement et jusqu'au 19^{ème} jour de gestation.

De plus, l'étude de Siddiqui *et al.* (2007) a été conduite selon les lignes directrices OPPTS³ et selon les Bonnes pratiques de laboratoire (BPL), ce qui n'est pas le cas de l'étude de Meeks *et al.* (2007).

Compte tenu de ces observations, l'étude clé retenue pour la construction de la VTR du D4 est l'étude de Siddiqui *et al.* (2007).

Le CES a considéré qu'il était pertinent de construire une VTR chronique basée sur une diminution du nombre de sites d'implantation car :

- Il s'agit de l'effet apparaissant aux doses les plus faibles ;
- des rats des deux sexes sont exposés dans l'étude de Siddiqui *et al.* (2007), et les mâles ne présentent aucun signe reflétant une toxicité du D4. Ils seront donc protégés par une VTR chronique basée sur une diminution du nombre de sites d'implantation ;

³ OPPTS : The Office of Prevention, Pesticides and Toxic Substances (US EPA)

- dans l'étude de Siddiqui *et al.* (2007), les animaux sont exposés 70 jours. Même s'il a été montré que l'effet peut se déclarer suite à une exposition plus courte, une telle durée d'exposition (ainsi que les études subchroniques et chroniques sur la substance) démontre qu'il n'y a pas d'effet plus sensible survenant lors d'expositions plus longues. Il s'agit donc bien de l'effet le plus sensible.

Choix de la dose critique

Les données expérimentales, établies sur la diminution du nombre de sites d'implantation résumées dans le tableau ci-dessous ont pu être modélisées à l'aide des modèles mathématiques utilisés par le logiciel Proast (Proast software version 38) élaboré par le RIVM⁴ afin d'établir une « Benchmark concentration » (BMC).

Tableau 1 : Nombre de sites d'implantation de la génération F0 (Siddiqui et al., 2007)

Dose (mg.m ⁻³)	0	840	3600	6000	8400
Moyenne	14,2	13,7	12,8	11,6	10,4**
Ecart-type	2,9	4,4	3,3	4,6	5

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 ». Il correspond à un excès de risque de 5% (BMR recommandé par l'Anses et l'EFSA⁵ pour les données quantales pour des effets sur la reproduction)

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 D4, le modèle s'ajustant le mieux aux données expérimentales est le modèle exponentiel.

Les valeurs retenues sont les suivantes :

- BMC_{5%} : 96 ppm
- BMC_{5%}L_{95%} : 72,9 ppm

Ajustement dosimétrique

Des modèles pharmacocinétiques à base physiologique (PBPK) ont été développés, permettant de modéliser le devenir du D4 dans les organismes de différentes espèces (rat, Homme) pour différentes voies d'exposition (orale, respiratoire, cutanée) (McMullin, 2016).

⁴ RIVM : Netherlands National Institute for Public Health and the Environment/Institut National pour la santé et l'environnement des Pays-Bas

⁵ EFSA : Autorité Européenne de Sécurité des Aliments

La démarche consiste à convertir la dose externe d'exposition chez l'animal en une dose interne à l'aide d'un modèle PBPK (exprimé en mg/L).

Ainsi, pour une dose critique calculée ($BMD_{5\%L_{95\%}} = 72,9$ ppm), la dose interne de D4 associée serait de 0,6 mg/L.

Chez l'Homme, on peut s'attendre à ce qu'une même quantité interne provoque les mêmes effets.

Un modèle PBPK humain a été utilisé pour prédire les concentrations correspondantes en D4.

A partir de la dose interne calculée précédemment chez le rat, la dose d'exposition en D4 chez l'Homme a été estimée.

Ainsi, une exposition journalière à une concentration de D4 de 160 ppm, soit $1920 \text{ mg}\cdot\text{m}^{-3}$ entraînerait chez l'Homme une quantité interne à l'organisme de substance proche de 0,6 mg/L. Cette valeur peut être considérée comme la $BMC_{5\%L_{95\%}} \text{ HEC}$.

Ajustement temporel

Les animaux ont été exposés 6 h/j tous les jours pendant 70 jours. Cependant, compte tenu de la nature de l'effet et des expérimentations réalisées dans l'étude de Meeks *et al.* (2007) montrant que l'effet ne se développe que sur des fenêtres d'exposition très courtes, il n'a pas été considéré nécessaire de réaliser un ajustement temporel.

Choix des facteurs d'incertitude

Le calcul de la VTR à partir de la $BMC_{5\%L_{95\%}} \text{ HEC}$ a été effectué à l'aide des facteurs d'incertitude suivants (Anses, 2015) :

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

L'utilisation du modèle PBPK a permis de calculer une concentration équivalente humaine (McMullin *et al.*, 2016). Pour tenir compte de la variabilité toxicodynamique et d'incertitudes résiduelles, un facteur d'incertitude supplémentaire a été fixé à 2,5 selon les recommandations de l'IPCS⁶ (IPCS, 2005) et sur la base des pratiques de l'Anses.

- Variabilité interindividuelle (UF_H) : 4,2

La valeur utilisée par défaut pour ce facteur est 10, divisée en deux composantes, une toxicocinétique de 3,16 et une toxicodynamique de 3,16.

Afin d'affiner la composante toxicocinétique, le modèle PBPK a été utilisé, conformément aux propositions de l'OMS⁷ (McMullin *et al.*, 2016). Dans ce modèle, la variation par défaut appliquée à chaque paramètre physiologique (volumes tissulaires, débits sanguins) a été établie à +/- 50%. Concernant le poids corporel, les données de la deuxième étude individuelle nationale des consommations alimentaires (INCA2) ont été utilisées, aboutissant à une moyenne de 60,5 kg +/- 20,62 chez les 3-79 ans.

Des estimations des concentrations veineuses pour la médiane, le 95^{ème} percentile et le 5^{ème} percentile sur 6 heures d'exposition ont été obtenues suite à 1000 itérations.

⁶ IPCS : International Programme on Chemical Safety/Programme International pour la sécurité chimique

⁷ OMS : Organisation mondiale de la santé

L'estimation de cet UF_{H-TK} s'obtient alors en faisant le ratio du 95^{ème} percentile et de la médiane de la concentration veineuse au bout de 6 heures d'exposition, soit : $0,84/0,63 = 1,33$

$$UF_H = UF_{H-TD} \times UF_{H-TK} = 3,16 \times 1,33 = 4,2$$

- 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 dans laquelle les animaux ont été exposés 70 jours. Cependant, ce temps d'exposition couvre un cycle de reproduction complet, et aucun effet plus sensible n'est observé dans les études par exposition subchronique ou chronique. L'utilisation d'un UF_S n'est donc pas jugée pertinente.

- 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 D4 sont jugées suffisantes pour la construction de la VTR.

Un facteur d'incertitude global de **10,5** est donc utilisé pour la construction de la VTR du D4.

Calcul de la VTR

$$VTR = 15,2 \text{ ppm, soit } 183 \text{ mg.m}^{-3}$$

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 :

Moyen : L'effet est robuste, retrouvé à des niveaux similaires dans les deux études l'évaluant. Cependant, le mode d'action n'est pas élucidé.

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

Fort : il s'agit d'une étude bien détaillée qui suit les lignes directrices OPPTS (US EPA) et qui a été conduite selon les BPL. Cette étude est de plus confortée par l'étude de Meeks *et al.* (2007).

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

Fort : la qualité de la relation dose-réponse est bonne, la construction d'une BMC a été possible. De plus, un modèle PBPK de qualité existe et a été utilisé pour dériver la dose équivalente humaine.

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

Le rapport a été validé à l'unanimité par les experts présents (13 experts présents).

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 chronique par inhalation pour le D4.

Effet critique Etude clé	Concentration critique	UF	VTR
Diminution du nombre de sites d'implantation Siddiqui <i>et al.</i> , 2007	BMC _{5%} L _{95%} = 72,9 ppm	10,5 UF _A : 2,5 UF _D : 1	VTR = 183 mg.m⁻³ Soit 15,2 ppm
	BMC _{5%} L _{95%} HEC = 160 ppm	UF _H : 4,2 UF _L : 1 UF _S : 1	Niveau de confiance Fort

Dr Roger GENET

MOTS-CLÉS

Octaméthylcyclotétrasiloxane, D4, 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.

International Program on Chemical Safety (IPCS) (2005) Harmonization Project Document No. 2 Chemical-specific adjustment factors for interspecies differences and human variability: guidance document for use of data in dose/concentration assessment (OMS, Genève) 100p.

McMullin, T.S., Yang, Y., Campbell, J., Clewell, H.J., Plotzke, K., Andersen, M.E. (2016). Development of an integrated multi-species and multi-dose route PBPK model for volatile methyl siloxanes - D4 and D5. *Regulatory Toxicology and Pharmacology* 74:S1-S13

Meeks RG, Stump DG, Siddiqui WH, Holson JF, Plotzke KP, Reynolds VL. (2007). An inhalation reproductive toxicity study of octamethylcyclotétrasiloxane (D4) in female rats using multiple and single day exposure regimens *Reprod Toxicol*. 23: 192-201.

Plotzke KP, Crofoot SD, Ferdinandi ES, et al. (2000). Disposition of radioactivity in fischer 344 rats after single and multiple inhalation exposure to [(14)C]Octamethylcyclotétrasiloxane ([(14)C]D(4)). *Drug Metab Disp* 28(2):192-204.

Reddy MB, Andersen ME, Morrow PE, et al. (2003). Physiological modeling of inhalation kinetics of octamethylcyclotétrasiloxane in humans during rest and exercise. *Toxicol Sci* 72:3-18.

Scientific Committee on Consumer Safety (SCCS). (2010). Opinion on Cyclomethicone. Octamethylcyclotétrasiloxane (Cyclotétrasiloxane, D4) and Decamethylcyclopentasiloxane (Cyclopentasiloxane, D5) - The SCCS adopted this opinion at its 7th plenary meeting of 22 June 2010.

Siddiqui WH, Stump DG, Plotzke KP, Holson JF, Meeks RG. (2007). A two-generation reproductive toxicity study of octamethylcyclotétrasiloxane (D4) in rats exposed by whole-body vapor inhalation. *Reprod Toxicol* 23:202-15.

Utell MJ, Gelein R, Yu CP, et al. (1998). Quantitative exposure of humans to an octamethylcyclotétrasiloxane (D4) vapor. *Toxicol Sci* 44:206-13.

Valeurs toxicologiques de référence (VTR)

Elaboration de VTR chronique par voie respiratoire pour
l'Octaméthylcyclotétrasiloxane
(CAS n°556-67-2)

Mission permanente « Valeurs toxicologiques de référence »

Saisine « 2015-SA-0205 »
Saisine liée « 2012-SA-0077 »

RAPPORT

d'expertise collective

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

Septembre 2016

Mots clés

Valeur toxicologique de référence, VTR, Octaméthylcyclotétrasiloxane, D4

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 » – 13 mars 2014, 10 avril 2014, 15 mai 2014, 12 juin 2014, 9 octobre 2014, 7 mai 2015, 10 décembre 2015, 11 février 2016, 10 mars 2016, 12 mai 2016 et 15 septembre 2016

Président

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

Vice-président

M. Dominique LAFON – Médecin toxicologue chez Nexter Group – 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 – *Démission en mars 2016*

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

Mme Marie-Anne ROBIN – Directeur de recherche à l'INSERM – Pharmacien toxicologue, biochimie, hépatotoxicité, perturbateurs endocriniens – *Décédée en août 2014*

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

Mme Marie-Anne ROBIN – Directeur de recherche à l'INSERM – Pharmacien toxicologue, biochimie, hépatotoxicité, perturbateurs endocriniens – *Décédée en août 2014*

PARTICIPATION ANSES

Coordination scientifique



Mme Aurélie MATHIEU-HUART – Chef de projets scientifiques – Anses

Contribution scientifique

Mme Marie-Laure COINTOT – Chef de projets scientifiques - Anses

Mme Pauline GUILLOU – Chargée de projets scientifiques – Anses

Secrétariat administratif

Mme Séverine BOIX-PETRE – Anses

SOMMAIRE

Présentation des intervenants	3
Sigles et abréviations	9
Liste des tableaux.....	11
Liste des figures	11
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	17
3.1.2 Distribution	18
3.1.2.1 Inhalation.....	18
3.1.2.2 Ingestion.....	19
3.1.3 Métabolisme.....	19
3.1.4 Excrétion	21
3.2 Toxicité aiguë	21
3.2.1 Données chez l'Homme.....	21
3.2.2 Données chez l'animal.....	22
3.3 Irritation	23
3.3.1 Données chez l'Homme.....	23
3.3.2 Données chez l'animal.....	23
3.3.2.1 Irritation cutanée.....	23
3.3.2.2 Irritation respiratoire	24
3.3.2.3 Irritation oculaire.....	24

3.4	Sensibilisation	25
3.4.1	Données chez l'Homme.....	25
3.4.2	Données chez l'animal.....	25
3.5	Toxicité subchronique et chronique	26
3.5.1	Données chez l'Homme.....	26
3.5.2	Données chez l'animal.....	26
3.5.2.1	Effets hépatiques.....	31
3.5.2.2	Effets respiratoires.....	32
3.5.2.3	Effets rénaux.....	33
3.6	Effets sur la reproduction et le développement	34
3.6.1	Données chez l'Homme.....	34
3.6.2	Données chez l'animal.....	34
3.7	Génotoxicité	42
3.8	Cancérogénicité	42
3.9	Mécanismes d'action/Extrapolation de l'animal à l'Homme	43
3.9.1	Toxicité hépatique.....	43
3.9.2	Toxicité pour la reproduction.....	45
4	Recueil des valeurs toxicologiques de référence	48
5	Proposition de VTR chronique par inhalation	49
5.1	Choix de l'effet critique.....	49
5.2	Analyse des VTR existantes.....	50
5.3	Construction de VTR.....	50
5.3.1	Choix de l'étude clé.....	50
5.3.2	Choix de la dose critique.....	51
5.3.3	Ajustement temporel.....	52
5.3.4	Ajustement dosimétrique.....	52
5.3.5	Construction de la VTR.....	Erreur ! Signet non défini.
5.3.6	Choix des facteurs d'incertitude.....	54
5.3.7	Proposition de VTR chronique par inhalation.....	56
5.3.8	Niveau de confiance.....	56
6	Conclusions du CES	57
7	Bibliographie	58
ANNEXES	61

Annexe 1 : Liens mentionnés dans les déclarations publiques d'intérêts des experts.....62



Sigles et abréviations

ALT	Alanine Aminotransférase
Anses	Agence nationale de sécurité sanitaire alimentation environnement travail
AST	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
CYP	Cytochrome P
DL ₅₀	Dose létale 50
ECHA	European Chemicals Agency (= Agence européenne des produits chimiques)
EFSA	European Food Safety Authority (=Autorité européenne de sécurité des aliments)
EINECS	European INventory of Existing Commercial chemical Substances
ER	Récepteur aux oestrogènes
EROD	7-éthoxyrésorufine O-dééthylase microsomale
FSH	Follicle Stimulating Hormone (= Hormone folliculo-stimulante)
γ-GT	Gamma-Glutamyltransférase
GD	Gestation Day (= jour de gestation)
GT	Groupe de Travail
HEC	Human Equivalent Concentration (=Concentration équivalente humaine)
IPCS	International Programme on Chemical Safety
LD	Lactation Day (= jour de lactation)
LH	Luteinizing Hormone (= Hormone Lutéinisante)
LOAEL	Lowest Observed Adverse Effect Level (= Dose minimale entraînant un effet néfaste observé)
NADPH	Nicotinamide Adénine Dinucléotide Phosphate
NOAEL	No Observed Adverse Effect Level (= Dose maximale n'entraînant pas d'effet néfaste observé)
OCDE	Organisation de Coopération et de Développement Économiques
OMS	Organisation Mondiale de la Santé
OPPTS	The Office of Prevention, Pesticides and Toxic Substances
PBPK	Physiologically based pharmacokinetics (= Pharmacocinétique à base physiologique)
PR	Récepteur à la progestérone
PROD	7-pentoxyrésorufine O-dépentylase microsomale
RIVM	Rijksinstituut voor Volksgezondheid en Milieu (= Institut National Néerlandais pour la Santé Publique et l'Environnement)

SCCS	Scientific Committee on Consumer Safety (= Comité Scientifique pour la Sécurité des Consommateurs)
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)
VLEP	Valeur Limite d'Exposition Professionnelle
VTR	Valeur Toxicologique de Référence

Liste des tableaux

Tableau 1 : Identification de la substance	14
Tableau 2 : Propriétés physico-chimiques.....	15
Tableau 3 : synthèse des effets aigus rapportés chez l'animal.....	22
Tableau 4 : Synthèse des données d'irritation cutanée	23
Tableau 5 : Synthèse des données d'irritation oculaire.....	24
Tableau 6 : tableau résumé des études de toxicité par exposition répétée	26
Tableau 5 : observations microscopique des lésions du rein.....	34
Tableau 8 : Etudes de reproduction (inhalation, corps entier).....	34
Tableau 9 : Etudes de tératogénicité.....	38
Tableau 10 : Résumé des données fœtales au sacrifice – Phase totale (28 jours avant l'accouplement jusqu'à GD 19).....	39
Tableau 11 : Résumé des données fœtales au sacrifice – Phase de fertilisation (3 jours avant l'accouplement jusqu'à GD 3).....	40
Tableau 12 : Résumé des données fœtales au sacrifice pour la génération F0 (Siddiqui <i>et al.</i>).....	41
Tableau 11 : Activités des enzymes PROD et EROD	43
Tableau 13 : VTR chronique par respiratoire pour le D4.....	57

Liste des figures

Figure 1 : réactions éventuelles expliquant le métabolisme du D4 chez l'Homme (Reddy et al. 2003) (* métabolites détectés dans les échantillons d'urine)	20
Figure 2 : Modélisation de la diminution du nombre de sites d'implantation.....	52
Figure 3 : Concentrations veineuses obtenues grâce au modèle PBPK sur 6 heures d'exposition (5 ^{ème} percentile en vert, médiane en rouge, 95 ^{ème} percentile en vert).....	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 ;
- 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 l'octaméthylcyclotétrasiloxane (D4). 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 D4.

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

L'octaméthylcyclotétrasiloxane (D4) fait partie des siloxanes cycliques de faible poids moléculaire, tout comme le décaméthylcyclopentasiloxane (D5).

Il a un squelette composé alternativement de 4 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 :

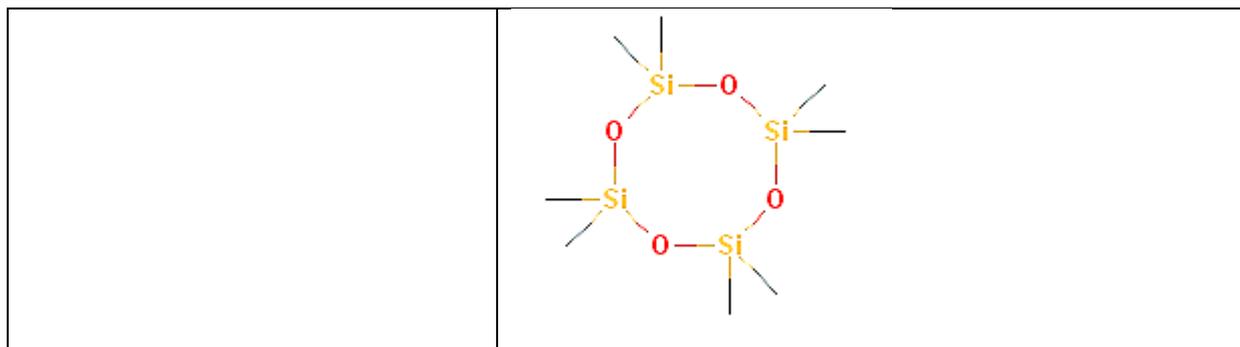
- Matière première, intermédiaire ou sous-produit de la production de fluides de silicone, d'élastomères et de résines, fabrication de polydiméthylsiloxanes,
- Fabrication de détergents et d'agents de nettoyage, de produits cosmétiques, de produits pharmaceutiques,
- Fabrication de peintures, laques, encres d'imprimerie, colorants, colles, cires et cirages à chaussures,
- Ingrédient inerte de formules de pesticides,
- Utilisation dans des applications électroniques.

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

Les consommateurs peuvent malgré tout être exposés au D4 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	Octaméthylcyclotétrasiloxane
Numéro CAS	556-67-2
Numéro EINECS	209-136-7
Synonymes	Cyclométhicone, Cyclotétrasiloxane (noms INCI), D4, Tétracyclométhicone
Formule	C ₈ H ₂₄ O ₄ Si ₄



2.2 Propriétés physico-chimiques

Tableau 2 : Propriétés physico-chimiques

Forme physique	Liquide huileux, clair à incolore, sans odeur
Poids moléculaire*	296,62 g.mole ⁻¹
Point d'ébullition*	175 – 175,8 °C
Point de fusion*	17,5 °C
Pression de vapeur (Pa)*	90 – 100 à 20°C
Densité*	0,95 – 0,96
Point d'éclair (en coupelle fermée)*	51 – 57 °C
Facteurs de conversion**	1 ppm = 12 mg.m ⁻³ , 1 mg.m ⁻³ = 0,0835 ppm
Solubilité***	5.10 ⁻³ mg.L ⁻¹ à 25°C, soluble dans le tetrachlorure de carbone
LogKow*	4,45 - 5,1 à 20°C

* Fiche toxicologique, INRS

** SCCS, 2010. Opinion on cyclomethicone

*** Site internet Toxnet, HSDB, le 04/02/2016

3 Synthèse des données toxicologiques

Concernant les références bibliographiques du D4, de nombreuses données mentionnées dans ce document sont retrouvées dans l'avis du Comité Scientifique pour la Sécurité des Consommateurs sur le D4 (SCCS, 2010) 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

Le D4 peut être absorbé chez l'Homme suite à une exposition par ingestion, voie pulmonaire ou contact cutané (Hanssen *et al.* 2013; Jovanovic *et al.* 2008; Reddy *et al.* 2003; Reddy *et al.* 2007; Sarangapani *et al.* 2003).

3.1.1.1 Inhalation

Une étude a été réalisée chez des volontaires. Douze sujets (8 hommes et 4 femmes) non-fumeurs, en bonne santé, et avec une fonction pulmonaire normale ont été exposés à 120 mg.m⁻³ (10 ppm) de vapeurs de D4 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 D4, soit une exposition à l'air. L'exposition au D4 a été déterminée de façon aléatoire, de sorte que les volontaires ne savaient pas s'ils étaient exposés au D4 ou non. Les niveaux de D4 dans l'air inhalé et exhalé ont été suivis continuellement durant l'exposition (Utell *et al.*, 1998).

Cette étude rapporte une fraction d'absorption moyenne de la dose inhalée de 8%. Soit environ 11% lorsque les volontaires sont au repos et 6 % pendant une période d'exercice. Cette fraction absorbée est donc dépendante du débit ventilatoire ; elle décroît avec l'augmentation du débit de ventilation, lors d'une activité physique. Les auteurs ont également comparé l'absorption par inhalation de D4 suite à une exposition par voie buccale ou nasale chez des volontaires. Douze volontaires ont été exposés au D4 à 120 mg.m⁻³ pendant 1 heure. Les volontaires étaient au repos. Les résultats n'ont montré aucune différence entre l'inspiration par voie buccale ou voie nasale.

Les données rapportées chez les rats sont très similaires à celles trouvées chez l'Homme. Une étude a exposé des rats par inhalation à des concentrations de 84, 840 ou 8400 mg.m⁻³ de D4 radio-marqué (¹⁴C) pendant 6 heures, en exposition unique ou répétée 14 fois. A la fin de l'exposition, l'absorption variait entre 5% et 6%. Cette étude montre que le genre et la dose n'influent pas sur l'absorption du D4 (Plotzke *et al.*, 2000).

3.1.1.2 Ingestion

Très peu d'études sont rapportées sur l'absorption orale de D4 chez l'animal, et aucune chez l'Homme.

L'absorption de D4 administré par voie orale est dose-dépendante. La fraction absorbée chez le rat était moins importante pour les fortes doses que pour les plus faibles doses (Dobrev *et al.*, 2008). Plusieurs études suggèrent que le D4 ingéré est absorbé en association avec des chylomicrons ou d'autres lipoprotéines via le système lymphatique (Dobrev *et al.*, 2008 ; Hanssen *et al.*, 2013 ; Sarangapani *et al.*, 2003). Très peu de D4 libre est alors disponible dans la circulation systémique pour une interaction avec les tissus. Le D4 lié aux lipoprotéines du sang pourra être stocké dans les graisses de l'organisme ou dissocié dans le foie par le système réticuloendothélial (Sarangapani *et al.*, 2003).

L'absorption du ¹⁴C-D4 a été évaluée chez les rats femelles Fischer 344 à la suite d'une administration orale unique de 300 mg/kg de ¹⁴C-D4 soit dissous dans l'huile de maïs, dissous dans de la siméthicone (silicone de faible volatilité utilisé en pharmaceutique), ou pur pour évaluer un effet potentiel du véhicule sur l'absorption. L'absorption orale du ¹⁴C-D4 est de 52%, 12% et 28% dans l'huile de maïs, la siméthicone ou seul respectivement. Cette étude indique donc que l'absorption orale du D4 serait bien influencée par le véhicule utilisé (ECHA, 2016 ; SCCS, 2010).

3.1.1.3 Contact cutané

Toutes les études chez l'animal ou l'Homme rapportent une faible absorption du D4 à travers la peau.

Les études *in vivo* chez le rat mentionnent un pourcentage similaire de la dose absorbée à travers la peau viable humaine, à savoir moins de 1% quelle que soit la dose appliquée (Jovanovic *et al.*, 2008 ; Reddy *et al.*, 2007 ; Zareba *et al.*, 2002). Toutes les études (i.e. chez l'animal ou *in vitro* avec de la peau humaine) ont été effectuées dans des conditions de semi-occlusion en raison du caractère volatil du D4 et afin de pouvoir quantifier l'évaporation suite à l'application de la dose.

Tant chez l'Homme que chez l'animal, il a été constaté que la majorité de la dose (environ 90 à 95%) de D4 appliquée s'était évaporée de la surface de la peau (Jovanovic *et al.*, 2008 ; Reddy *et al.*, 2007 ; Zareba *et al.*, 2002). En conséquence, seulement 3 à 4% de la dose appliquée reste à la surface de la peau dont moins de 1% est absorbée en 24 heures (Jovanovic *et al.*, 2008).

L'étude *in vitro* de Jovanovic *et al.* (2008) a estimé l'absorption cutanée de D4 à travers la peau humaine à environ 0,5% de la dose appliquée, que le D4 soit sous forme de standard pur ou sous forme de formulation d'anti-transpirant testée après 24 heures d'exposition.

La voie cutanée étant une voie mineure d'absorption (<1%), les chapitres distribution, métabolisation et excrétion ne concerneront que l'inhalation et dans une moindre mesure l'ingestion.

3.1.2 Distribution

3.1.2.1 Inhalation

Après absorption pulmonaire, le D4 parvient dans la circulation systémique sous forme libre. Il est alors distribué à travers tout l'organisme et peut être stocké dans les tissus.

Du fait de son faible coefficient de partage sang:air (environ 1), le D4 est rapidement éliminé par l'air exhalé et la clairance hépatique, mais en raison de son fort coefficient de partage graisse:sang, la fraction de D4 non éliminée, est facilement stockée dans des réserves de graisse. Ces dernières agissent comme des dépôts et limitent la redistribution du D4 à travers l'organisme. De plus, une fraction de la quantité absorbée persiste également sous forme liée, notamment par séquestration dans le sang via les lipoprotéines (Dobrev *et al.*, 2008 ; Plotzke *et al.*, 2000 ; Reddy *et al.*, 2003 ; Sarangapani *et al.*, 2003).

Les études chez des volontaires rapportent une clairance rapide et non linéaire du D4 dans le plasma et le sang, du fait que le D4 libre est rapidement exhalé ou métabolisé alors que le D4 lié est persistant dans le sang (Reddy *et al.*, 2003 ; SCCS, 2010 ; Utell *et al.*, 1998). Selon leur modèle, Utell *et al.* (1998) ont calculé une demi-vie du D4 dans le sang pour la phase initiale de 30 minutes, puis une demi-vie de 330 minutes pour la phase terminale. La première phase aurait lieu avant que l'absorption dans les poumons ne soit complète, et la deuxième permettrait de mieux représenter la clairance simplifiée du D4 dans le plasma.

Le modèle de Reddy *et al.* (2003) confirme que la fraction de D4 lié mesurée dans le sang à la fin de l'exposition augmente 1 heure après l'exposition. Ainsi, à la fin de l'exposition quand la majorité du D4 présent dans le sang est sous forme libre, la demi-vie d'élimination calculée pour le D4 dans le sang serait de 1,4 heure alors qu'elle serait de 4,2 heures dans une deuxième phase, lorsque la majorité de D4 est sous forme liée dans le sang. Reddy *et al.* (2003) concluent que le modèle cinétique chez l'Homme est similaire à celui pour les rats, avec des coefficients de partage et une structure comparable. Toutefois, la comparaison des données chez les volontaires avec celles du rat montre que le D4 a une demi-vie plus courte dans le plasma chez l'Homme.

Les résultats chez l'animal décrivent une radioactivité qui était largement distribuée à travers l'organisme jusqu'à 168 heures après inhalation. Certains tissus (adipeux, poumons, foie, ovaires) contenaient des niveaux plus élevés de radioactivité que le plasma (3 à 10 fois) alors que d'autres (testicules, utérus, vagin) contenaient des niveaux de radioactivité similaires ou légèrement plus

élevés que le plasma. La concentration maximale (Cmax) a été observée à la fin de l'exposition pour la majorité des tissus, et à 1 heure après exposition pour le sang, 3 heures pour le plasma et 12 heures pour les graisses.

L'élimination de la radioactivité était multiphasique pour le sang, le plasma et les tissus autres que la graisse et caractérisée par un déclin relativement rapide jusqu'à 24 heures après exposition puis par une phase d'élimination plus lente (48 à 72 heures après exposition). Ainsi, la demi-vie d'élimination apparente calculée était de 56 (± 10) heures dans le plasma. Les tissus (autres que la graisse) avec la plus longue demi-vie étaient les testicules, la peau, les poumons, les muqueuses nasales, les yeux, l'utérus et le vagin. En ce qui concerne les graisses, la demi-vie variait entre 78 et 226 heures (Plotzke *et al.*, 2000 ; SCCS, 2010).

3.1.2.2 Ingestion

Il n'a pas été retrouvé, dans la littérature scientifique de données de distribution chez l'Homme suite à l'ingestion de D4.

Une petite portion de D4 sous forme libre est disponible pour la distribution systémique (Hanssen *et al.*, 2013). Le D4 lié dans le sang peut être sélectivement séquestré dans les réserves de graisse et dans le foie alors que le D4 sous forme libre est disponible pour les échanges avec les tissus ou l'air. Il reste que le D4 a une forte affinité pour les tissus ou organes riches en lipides et manifeste une préférence pour un stockage dans les graisses (Hanssen *et al.*, 2013 ; Sarangapani *et al.*, 2003).

3.1.3 Métabolisme

Chez les volontaires et chez les rats, le D4 a été mesuré sous forme non-métabolisée dans l'air expiré alors que dans l'urine seules les formes métabolisées ont été mesurées (Plotzke *et al.* 2000; Reddy *et al.* 2003). Le D4 serait donc métabolisé dans le foie à l'aide d'une voie métabolique simple suivant une cinétique saturable (Michaelis-Menten) (Sarangapani *et al.* 2003). Plusieurs cytochrome P-450 hépatiques ont d'ailleurs été identifiées comme responsables du métabolisme hépatique, notamment CYP 2B et CYP 3A (Dobrev *et al.* 2008).

Afin de déterminer les fractions de D4 non métabolisé et de ses métabolites dans différentes matrices biologiques, à savoir le sang, le plasma, les urines, les fèces, le foie, les poumons et les graisses, Varaprath *et al.* (1998) ont analysé des échantillons de ces matrices prélevées sur des rats exposés par inhalation ou par voie intraveineuse à une dose de 70 mg/kg de D4 radio-marqué. Les résultats ont montré que les proportions variaient selon les matrices. Ainsi, dans les échantillons d'urine, seuls les métabolites du D4 sont présents alors que dans les poumons c'est majoritairement le D4 non métabolisé qui a été quantifié. Reddy *et al.* (2003), montrent qu'à la fin des 6 heures d'inhalation chez le rat, la majorité de la radioactivité détectée dans les urines correspondait à des métabolites du D4.

Les deux métabolites majeurs identifiés dans l'urine chez le rat sont le diméthylsilanediol ($\text{Me}_2\text{Si}(\text{OH})_2$) et le méthylsilanetriol ($\text{MeSi}(\text{OH})_3$). Ils représentent 75 à 85% des métabolites urinaires (SCCS, 2010). Le $\text{MeSi}(\text{OH})_3$ est formé à partir d'une déméthylation oxydative des liens méthyl-silicone du D4. Les 5 autres métabolites mineurs identifiés sont probablement issus d'une hydrolyse ou/et d'une oxydation des métabolites formés suite à l'oxydation du D4 par les enzymes P-450 (Plotzke *et al.*, 2000). Selon Sarangapani *et al.* (2003), le métabolisme du D4 résulte en la formation d'un trimère linéaire et d'un siloxane monomérique suite à l'ouverture de l'anneau de la molécule de D4 par une oxydation/hydrolyse.

Reddy *et al.* (2003) confirment que le $\text{Me}_2\text{Si}(\text{OH})_2$ et le $\text{MeSi}(\text{OH})_3$ sont également les deux métabolites urinaires majeurs chez l'Homme. Ils proposent notamment un mécanisme de réaction qui pourrait expliquer le métabolisme du D4 chez l'Homme (Figure 1).

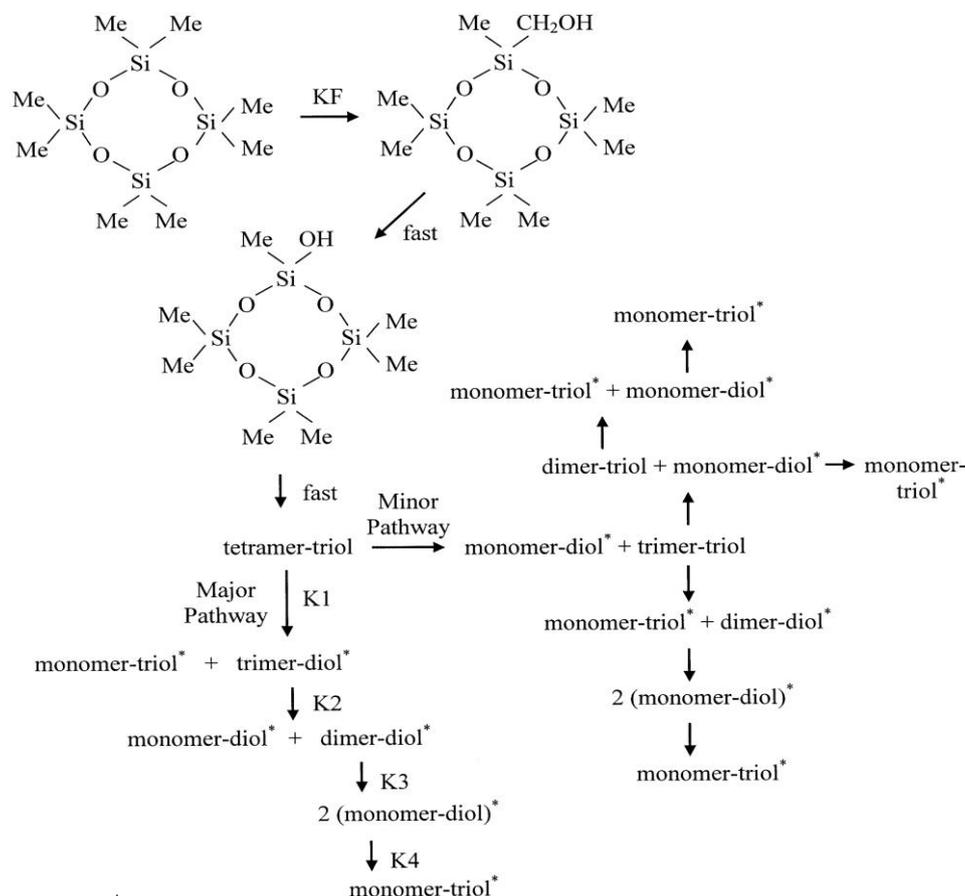


Figure 1 : réactions éventuelles expliquant le métabolisme du D4 chez l'Homme (Reddy *et al.* 2003) (* métabolites détectés dans les échantillons d'urine)

Une partie du D4 pourrait être métabolisée au niveau des poumons selon Dobrev *et al.* (2008). Ils suggèrent que les différents cytochromes P-450, dont CYP 2B et 3A, responsables du métabolisme hépatique du D4 après une exposition, sont également présents dans les poumons

mais à des niveaux de saturation faibles. Cela pourrait expliquer la présence de métabolites secondaires de D4 dans les poumons dans les résultats de Varaprath *et al.* (1998).

3.1.4 Excrétion

L'étude d'Utell *et al.* (1998) chez des volontaires décrit une élimination rapide du D4 par l'air exhalé ainsi que du plasma en raison de son petit poids moléculaire et de son caractère lipophile.

Reddy *et al.* (2003) rapportent une élimination rapide du D4 après l'exposition de volontaires à 120 mg.m⁻³ de D4 radio-marqué par inhalation. Dans la période de 30 minutes suivant l'exposition, environ 13% de la dose de D4 absorbée était éliminée par exhalation.

Une autre étude chez 6 volontaires masculins exposés à 120 mg.m⁻³ de D4 radio-marqué pendant 1 heure montre également qu'environ 25 à 30% de la dose de D4 absorbée se retrouve dans les urines, seulement sous forme de métabolites (SCCS 2010).

Toutes les études chez les rats exposés à différentes doses de D4 radiomarqué par inhalation attestent que les voies majeures d'élimination du D4 sont l'exhalation et l'urine. Ainsi, Sarangapani *et al.* (2003) observent que plus de 90% de la dose absorbée est éliminée par des échanges gazeux dans les poumons et que moins de 10% est excrétée par les urines. Dans leur étude chez les rats exposés par inhalation à 84, 840 ou 8400 mg.m⁻³ de D4 radio-marqué, Plotzke *et al.* (2000) confirment que seul le D4 non métabolisé est détecté dans les analyses d'air expiré et que seulement les métabolites polaires du D4 sont éliminés dans l'urine (pas de D4 non métabolisé). Plotzke *et al.* (2000) constatent que 75 à 80% de la radioactivité est éliminée 168 heures après exposition.

Des résultats similaires sont obtenus dans l'étude d'Utell *et al.* (1998) chez des rats exposés soit à une dose unique soit à des doses multiples par inhalation. Les données indiquent également une élimination rapide du D4 par l'air expiré, 26% de la dose absorbée a été éliminée en 24 heures.

Après une exposition orale, le D4 est éliminé par exhalation et par l'urine dans des proportions similaires, soit approximativement 49% de la dose absorbée pour les deux voies d'élimination chez le rat (Sarangapani *et al.*, 2003).

3.2 Toxicité aiguë

3.2.1 Données chez l'Homme

Dans l'étude décrite précédemment (cf 3.1.1.1), Utell *et al.* (1998) ne relèvent aucun effet néfaste sur les volontaires exposés à 120 mg.m⁻³ de D4 par inhalation pendant 1 heure.

Reddy *et al.* (2007) n'observent pas non plus d'effet sur la santé des volontaires auxquels une dose de 1 ou 1,4 g de D4 a été administrée pendant 24 heures sur la peau des aisselles.

3.2.2 Données chez l'animal

Il a été retrouvé dans le rapport du SCCS (2010) et sur le site de l'ECHA (2016) plusieurs données de toxicité aiguë provenant, pour la plupart, de rapport non publiés dans la littérature scientifique.

Tableau 3 : synthèse des effets aigus rapportés chez l'animal

Référence	Lignes directrices	BPL*	Données expérimentales	Résultats
Voie orale				
ECHA, 2016	/	NR	Rat (2/dose) 2 000 mg/kg de pc dans huile de maïs	Perte de poids Pas de mortalité DL ₅₀ > 2 000 mg/kg de pc
	/	Non	Rat (2/dose) 2 000 mg/kg pc dans huile de maïs	Diarrhée Altérations histologiques du foie et des reins à la nécropsie Pas de mortalité DL ₅₀ > 2 000 mg/kg de pc
	/	Non	Souris CD1 (5/sexe/dose) 1, 2, 4 and 8 g/kg pc dans huile de cacahuète	Pas de mortalité à 1 g/kg pc 7 animaux morts à 2 g/kg pc Mort de tous les animaux à 4 et 8 g/kg pc DL ₅₀ = 1 700 mg/kg de pc
Carpenter <i>et al.</i> 1974	Comparable à OCDE 401	Non	Rats Wistar (5 mâles) Gavage	DL ₅₀ > 61 440 mg/kg de pc
ECHA, 2016	/	Non	Rat 4 600 mg/kg pc	Pas de mortalité DL ₅₀ > 4 600 mg/kg de pc
	Comparable à OCDE 401	Non	Rats Wistar (10 mâles) Dose : 5 ml/kg pc (4 800 mg/kg pc)	Pas de signe de toxicité Pas de mortalité DL ₅₀ > 4 800 mg/kg de pc
Inhalation				
ECHA, 2016	/	Non	Rat Wistar (5/sexe) Nez seul (4 h) 12 172 mg.m ⁻³	CL ₅₀ > 12 172 mg.m ⁻³
	/	Non	Rat (1h)	CL ₅₀ > 17600 mg.m ⁻³
	OCDE 403	Oui	Rat Fisher 344 (5/sexe/dose) Nez-seul (4 h) : 20 000 mg.m ⁻³ 30 000 mg.m ⁻³ 54 000 mg.m ⁻³	CL ₅₀ : 36 000 mg.m ⁻³ (4 heures) Réduction de l'appétit (tous les groupes) Perte de poids (tous les groupes) Troubles de comportement (démarche,

			Aérosols à toutes les doses	agitation...) (tous les groupes) Légères modifications du poids de certains organes Tachypnée (30 000 mg.m ⁻³) Râles, problème de maintien de la tête (30 000 et 54 000 mg.m ⁻³) Anomalies macroscopiques de certains organes (poumons, thymus) (30 000 et 54 000 mg.m ⁻³) Après arrêt de l'exposition, tous les signes de toxicité avaient disparu en 6 j
Cutanée				
ECHA, 2016	Comparable à OCDE 402	Non	Rat Wistar (5/sexe) Dose: 2,5 mL/kg pc	Pas de mortalité DL ₅₀ > 2 400 mg/kg de pc
	/	Non	Lapin	Pas de mortalité DL ₅₀ > 4 640 mg/kg de pc
	/	Non	Lapin New Zealand (6/sexe) Dose : 10 000 mg/kg	Pas de mortalité DL ₅₀ > 10 000 mg/kg de pc
	Comparable à OCDE 402	Non	Rat Sprague Dawley (5/sexe) Dose : 2 000 mg/kg (occlusif 24 h)	DL ₅₀ > 2 000 mg/kg Pas d'irritation de la peau Pas de mortalité

*Bonnes Pratiques de Laboratoire

3.3 Irritation

3.3.1 Données chez l'Homme

Dans l'étude décrite précédemment (cf 3.1.1.1), Utell *et al.* (1998), chez des volontaires humains exposés à 120 mg.m⁻³ de D4 pendant 1 heure par inhalation, n'ont rapporté aucun signe d'irritation respiratoire.

3.3.2 Données chez l'animal

3.3.2.1 Irritation cutanée

Il a été retrouvé sur le site internet de l'ECHA plusieurs données d'irritation cutanée provenant de rapports non identifiés dans la littérature scientifique :

Tableau 4 : Synthèse des données d'irritation cutanée

Référence	Lignes directrices	BPL	Méthode	Concentration	Espèce, sexe	Résultats
ECHA, 2016	Comparable à OCDE 404	Non	Exposition 24h, observation 72h	non dilué (0,5 ml) Surface ~12,5 cm ²	6 Lapins albinos	Non irritant
	/	Non	/	/	Lapin	Légèrement irritant
	/	Non	Exposition 24h, observation 7 jours	Non dilué (0,5 ml)	2 Lapins Néo-Zélandais	Non irritant

3.3.2.2 Irritation respiratoire

Aucune donnée n'est disponible concernant l'irritation respiratoire pour le D4.

3.3.2.3 Irritation oculaire

Tableau 5 : Synthèse des données d'irritation oculaire

Référence	Lignes directrices	BPL	Méthode	Concentration	Espèce, sexe	Résultats
ECHA, 2016	Comparable à OCDE 405	Non	Draize test	Non dilué (0,1 ml) Non rincé	2 Lapins Néo-Zélandais	Non irritant
	/	Non	Une exposition/ jours pendant 4 jours	Non dilué	2 Lapins	Modérément irritant
	OCDE 405	Oui	Exposition 24h, observation 72h	Non dilué	3 Lapins Néo-Zélandais (femelles)	Non irritant
	/	Non	Exposition 7 jours, observation, 7 jours	Non dilué (0,1 ml)	2 Lapins Néo-Zélandais	Non irritant
	/	Non	/	Non dilué	Lapin	Non irritant

/	Non	Un groupe rincé et l'autre non	Non dilué	Lapin	Non irritant
OCDE 405	Non	Observation 72h	Non dilué, non rincé	6 Lapins Néo-Zélandais	Non irritant
/	Non	Un groupe rincé et l'autre non	Non dilué	Lapin	Non irritant

3.4 Sensibilisation

3.4.1 Données chez l'Homme

Dans une étude sur volontaires, Looney *et al.* (1998), ont étudié le potentiel immuno-toxique du D4. Cette étude fait suite à celle d'Utell *et al.* (1998) décrite à la section 3.1.1.1. Les 12 volontaires exposés à 120 mg.m⁻³ de D4 pendant 1 heure par inhalation ont été réexposés aux mêmes concentrations 3 mois plus tard. Cette étude n'a montré aucune anomalie immunologique ou anomalie biologique selon les bilans sanguins de ces volontaires, ni aucune anomalie des épreuves fonctionnelles respiratoires ou symptôme d'irritation pulmonaire. Des échantillons de sang ont été prélevés avant et immédiatement après l'exposition, puis à 1, 6 et 24 heures après exposition lors des deux expositions afin de faire des tests immunologiques et quantifier le D4 dans le plasma. Les tests immunologiques consistaient en un ionogramme, la numération de la formule sanguine, la numération des sous-populations lymphocytaires, le dosage de diverses cytokines et des tests fonctionnels sur les cellules mononuclées. Ainsi, aucun effet immuno-toxique ou inflammatoire pulmonaire lié à l'exposition de 120 mg.m⁻³ de D4 par les voies respiratoires n'a pu être mis en évidence chez l'Homme.

3.4.2 Données chez l'animal

Un test de maximisation conforme aux lignes directrices OCDE 406 a été effectué chez le cobaye pour déterminer le potentiel sensibilisant du D4. Vingt femelles par groupe ont été utilisées. En phase d'induction, elles ont été exposées en intracutané à 1% de D4 dans de l'huile de paraffine, et au D4 pur en épicutané. Quatorze jours après, pour la phase de challenge, le D4 a été appliqué dilué à 10% dans de l'huile de paraffine ou non dilué. Il apparaît que le D4 n'est pas un sensibilisant cutané (SCCS, 2010, ECHA, 2016).

Comme chez l'Homme, aucune n'information n'est disponible sur le potentiel asthmogène du D4 chez l'animal.

3.5 Toxicité subchronique et chronique

3.5.1 Données chez l'Homme

Aucune information concernant les effets de doses répétées au D4 n'est disponible chez l'Homme.

3.5.2 Données chez l'animal

Les études de toxicité répétée sont synthétisées dans le tableau 6. Toutes ces études ont été réalisées par les industriels de Dow Corning et rapportées par le SCCS (2010). Certaines de ces études ont été publiées dans des revues soumises à comité de lecture.

Tableau 6 : tableau résumé des études de toxicité par exposition répétée

<i>Espèce</i>	<i>Doses/durée d'exposition</i>	<i>Effets</i>	<i>Référence</i>
Orale			
Rats Sprague-Dawley	8 animaux/dose 25, 100, 400, ou 1600 mg/kg/jour par gavage 5 jours/semaine pendant 14 jours	Augmentation du poids du foie >10% chez les mâles aux doses de 400 et 1600 mg/kg/jour, et 8, 17, 24 et 24% chez les femelles aux doses successives. Légère diminution du poids pour les doses de 1600 mg/kg/j chez les mâles (-17%) et les femelles (-11%).	Dow Corning (1990) étude rapporté par SCCS (2010)
Lapin New-Zealand	6 femelles/dose 500 ou 1000 mg/kg/jour 7 jours/semaine pendant 14 jours	Pas de signe de toxicité Diminution statistiquement significative du gain de poids et de la consommation alimentaire aux 2 doses. Diminution du poids du thymus et de la rate (aux 2 doses). Les ganglions lymphatiques mésentériques étaient plus petits à la faible dose chez certains animaux. Des modifications histologiques ont été observées au niveau du foie (plus marquées à 1000 mg/kg).	Dow Corning (1992) étude rapporté par SCCS (2010)
Inhalation			
14 jours			
Rat Charles River Cd	5 mâles + 5 femelles/concentration 0, 1200, 2400 ou 4800 mg.m ⁻³ (corps entier) 6h/j	Pas de mortalité ; Pas d'effet sur le poids des animaux ; Diminution de l'appétit à 4800 mg.m ⁻³ pendant les 7 premiers jours ;	Dow Corning (1988a) rapportée par SCCS

		Pas de signe de toxicité à l'examen histologique.	(2010)
Rat Sprague-Dawley	Adultes : 5 animaux/sexe/concentration Non-adultes : 5 animaux/sexe/concentration 0 ou 11400 mg.m ⁻³ (corps entier) 6h/j	Pas de mortalité ; Perte de poids significative à la fin de l'expérimentation (l'effet n'était plus significatif après 14 j d'arrêt de l'exposition) ; Pas de signe de toxicité à l'examen histologique.	Dow Corning (1988b) rapportée par SCCS (2010)
28 jours			
Rat Fischer 344	25 animaux/concentration 0, 84, 240, 720, 2160 ou 6480 mg.m ⁻³ (corps entier) 6 h/jour, 5 j/semaine (soit 20 jours d'exposition)	Augmentation statistiquement significative du poids absolu et relatif du foie chez les mâles (à 2160 mg.m ⁻³) et les femelles (à partir de 240 mg.m ⁻³) ; Aucun changement sur le poids corporel, la consommation de nourriture ou les paramètres d'analyse d'urine ni d'altérations histopathologiques ou dans le fonctionnement du système immunitaire pour toutes les concentrations étudiées.	Klykken <i>et al.</i> (1999)
Rat Fischer 344	<i>Effet de doses répétées :</i> 10 animaux/concentration 0 ou 8400 mg.m ⁻³ (corps entier) 6 h/jour, 5 j/semaine (soit 20 jours d'exposition) <i>Effet des concentrations de D4 sur la prolifération des cellules hépatiques :</i> 10 animaux/concentration 0, 84, 360, 840, 1800, 3600 ou 8400 mg.m ⁻³ (corps entier) 6 h/jour pendant 5 jours	Hépatomégalie et induction de l'expression pléiotropique des enzymes du cytochrome P450 de manière similaire au phénobarbital ; L'exposition au D4 induit l'apparition initiale de prolifération cellulaire, avec un maximum atteint entre 1 et 6 jours d'exposition, suivie d'un retour rapide aux valeurs contrôles, même lors d'une exposition prolongée. L'augmentation de la prolifération des cellules hépatiques observée entre les jours 1 et 6 de l'exposition était concentration dépendante ; Augmentation légère mais statistiquement significative du poids de la thyroïde et augmentation de la prolifération des cellules de la thyroïde. L'augmentation de la prolifération des cellules de la thyroïde n'est pas toujours corrélée avec l'augmentation du poids de la thyroïde. Aucun changement notable dans le poids de la thyroïde ou la prolifération cellulaire observé avant 6 jours d'exposition à 8400 mg.m ⁻³ .	McKim <i>et al.</i> (2001a)
Rats Fischer 344	10 animaux/sexe/concentration 0, 2712, 5004, 8400 ou 13848	À partir de 5004 mg.m ⁻³ , le poids du foie augmente (16 à 26% par rapport à celui des contrôles pour les mâles et 19 à 43% pour les	Dow Corning (1995a)

	mg.m ⁻³ (nez seul) 6 h/jour OCDE 412	femelles). Hypertrophie hépatocellulaire observée chez plusieurs rats mâles et femelles à partir de 8400 mg.m ⁻³ ; Augmentation de l'inflammation alvéolaire (minimale à légère) à toutes les doses et prolifération des cellules caliciformes de la cavité nasale à la plus forte dose ; Augmentation de poids des glandes surrénales chez les mâles à la plus forte dose et chez les femelles aux 2 plus fortes doses (12-30% par rapport aux contrôles) avec augmentation de l'incidence de vacuolisation dans la zone fasciculata parfois ; Diminution statistiquement significative du poids du thymus chez les mâles à la plus forte dose et chez les femelles aux 2 plus fortes doses (14-30% par rapport aux contrôles) ; Effets sur les ovaires : légère diminution du nombre de corps jaunes.	rapportée par SCCS (2010)
35 jours			
Rats Sprague Dawley Souris CD-1 Hamsters Golden Syrian Lapins New Zealand white Cobayes Hartley	10 animaux/sexe/concentration excepté pour les lapins (5 animaux/sexe/concentration) 0, 120 ou 8400 mg.m ⁻³ (corps entier) 6 h/jour, 5 j/semaine (soit 25 jours d'exposition)	La souris semble être l'espèce la plus sensible à l'hépatomégalie, avec des augmentations de poids du foie statistiquement significative de 60 à 80% à 8400 mg.m ⁻³ . A la même dose, augmentation de poids du foie pour les rats et les hamsters également, mais 20 à 40% ; Aucun effet sur le poids du foie observé chez les lapins et les cobayes ; Augmentation de poids du foie corrélée avec la quantité de métabolite méthylsilanetriol détectable dans l'urine.	Dow Corning (2001) rapportée par SCCS (2010)
3 mois – corps entier			
Rats Sprague-Dawley	50 mâles + 20 femelles (groupe contrôle et 3600 mg.m ⁻³) 10 mâles + 10 femelles (60 et 120 mg.m ⁻³) 6 h/jour, 5 j/semaine (soit 65 jours d'exposition) Récupération de 4 semaines	Augmentation du poids du foie statistiquement significative seulement chez les femelles (11% pour 60 mg.m ⁻³ , 14% pour 120 mg.m ⁻³ , et 28% pour 3600 mg.m ⁻³ par rapport au groupe contrôle) ; Après la période de récupération, augmentation du poids du foie presque complètement inversée et aucun changement histopathologique observé ;	GSPA (1991) rapportée par SCCS (2010)

Rats Sprague- Dawley	10 mâles + 10 femelles/ concentration 0, 600, 3600 ou 8400 mg.m ⁻³ 6h/j, 7 j/semaine Récupération de 28 jours	Réduction du gain de poids corporel chez les femelles à la plus forte dose, réversible ; Augmentation du poids du foie chez les femelles (10% pour 3600 mg.m ⁻³ et 20% pour 8400 mg.m ⁻³ par rapport au groupe contrôle) et chez les mâles (24% pour 600 mg.m ⁻³ , 17% pour 3600 mg.m ⁻³ , et 27% pour 8400 mg.m ⁻³ par rapport au groupe contrôle). Après la période de récupération, augmentation du poids du foie presque complètement inversée et aucun changement histopathologique observé ; Diminution du poids des ovaires à la plus forte dose après récupération seulement.	Dow Corning (1989) rapportée par SCCS (2010)
3 mois – nez-seul			
Rats Fischer 344	30 animaux/sexe (0 et 10776 mg.m ⁻³) 20 animaux/sexe (420, 1464 ou 5856 mg.m ⁻³) 6 h/jour, 5 j/semaine (soit 65 jours d'exposition) Récupération : 1 mois	Aucune augmentation de poids du foie supérieure à 10% par rapport au groupe contrôle chez les mâles. Chez les femelles, augmentation statistiquement significative du poids absolu (20% à 5856 mg.m ⁻³ , et 25% à 10776 mg.m ⁻³ par rapport au groupe contrôle) et relatif du foie. Ces changements ne sont pas observés après la période de récupération. Aucune modification histopathologique associée. Augmentation statistiquement significative des y-GT à la plus forte concentration des chez les mâles (168%) et aux deux plus fortes concentrations chez les femelles (330% et 975%). Augmentation statistiquement significative des ALT à la plus forte concentration chez les deux sexes (mâles : 26%, femelles : 15%). Diminution dose dépendante et statistiquement significative des triglycérides à 1464, 5856 et 10776 mg.m ⁻³ chez les deux sexes. Seuls les ALT chez les mâles ne sont pas réversibles ; Augmentation statistiquement significative du poids absolu des poumons réversible chez les femelles à la plus forte concentration. Augmentation concentration dépendante de l'incidence et de la sévérité de l'accumulation de macrophages alvéolaires et de l'inflammation interstitielle chez les deux sexes. Ces effets sont toujours observés après arrêt du traitement ; Augmentation statistiquement significative réversible du poids absolu (+ 17 et 29% aux deux	Burns- Naas <i>et al.</i> (2002)

		<p>plus fortes concentrations) et relatif des glandes surrénales chez les femelles. Non observé chez les mâles ;</p> <p>Diminution statistiquement significative réversible du poids absolu (21-14% par rapport aux contrôles) et relatif du thymus chez les femelles ;</p> <p>Diminution statistiquement significative et réversible du poids des ovaires à la plus forte concentration (62% par rapport aux contrôles). Une hypoactivité réversible des ovaires est également observé (diminution du nombre de corps jaunes) à la plus forte concentration ;</p> <p>Augmentation réversible du nombre d'animaux en diestrus et de l'apparition de mucification de la muqueuse vaginale à la plus forte concentration.</p>	
24 mois			
Rats Fischer 344	<p>10 mâles + 10 femelles/ concentration 0, 120, 360, 1800, 8400 mg.m⁻³ (corps entier) 6 h/jour, 5 j/semaine jusqu'à 24 mois Sacrifices après 6 mois (6 ♂ - 6 ♀), 12 mois (10 ♂ - 10 ♀) ou 24 mois (60 ♂ - 60 ♀)</p> <p>20 mâles + 20 femelles/concentration Exposés 12 mois et sacrifiés à 24 mois EPA OPPTS 870.4300</p>	<p>À 12 mois, augmentation du poids du foie chez les femelles (14% à 1800 mg.m⁻³, et 29% à 8400 mg.m⁻³) et chez les mâles (16% à 1800 mg.m⁻³, et 32% à 8400 mg.m⁻³) ; À 24 mois, augmentation du poids du foie chez les femelles aux deux plus fortes doses (14% et 30%), et chez les mâles seulement à 8400 mg.m⁻³ (27%) ; Effet qui semble réversible malgré une légère augmentation du poids relatif chez les mâles du groupe C à la plus forte dose ; Hypertrophie des hépatocytes centrolobulaires chez les mâles à 8400 mg.m⁻³, (60% des rats) ; Aucune modification des paramètres sériques notable à 6, 9, ou 12 mois ;</p> <p>Augmentation de la sévérité des néphropathies à 24 mois chez les deux sexes ;</p> <p>Modifications histopathologiques du tractus respiratoire chez les deux sexes à 12 et 24 mois (hyperplasie des cellules caliciformes, globules éosinophiles intracytoplasmiques...). Effets réversibles ;</p> <p>Augmentation de l'incidence et de la sévérité de l'hyperplasie épithéliale endométriale à la plus forte dose dans le groupe D. Non observé dans le groupe C.</p>	<p>Battelle Toxicology Northwest (2004) rapportée par SCCS (2010)</p>

Les études de 14 jours ne montrent pas d'effet jusqu'à 4800 mg.m⁻³ chez le rat et montrent une perte de poids ou une réduction du gain de poids significatifs à 11400 mg.m⁻³.

Les études de 28 à 35 jours chez le rat montrent :

- une augmentation de poids du foie chez les mâles (à partir de 2160 mg.m⁻³) et les femelles (à partir de 240 mg.m⁻³) sans modification du poids corporel, de la consommation alimentaire, ni d'altérations histopathologiques hépatique ou d'altération du système immunitaire ;
- une augmentation de la prolifération des cellules hépatiques observée entre le premier et le sixième jour d'exposition à partir de 840 mg.m⁻³ ;
- une hypertrophie hépatocellulaire observée chez plusieurs rats mâles et femelles à partir de 8400 mg.m⁻³.

L'augmentation de poids du foie variait selon les espèces. Ainsi, la souris serait l'espèce la plus sensible à l'augmentation de poids du foie. Il semble que cette augmentation soit liée à la quantité de métabolite méthylsilanetriol détectée dans les urines de l'animal.

D'autres fonctions ont également pu être modifiées à 8400 mg.m⁻³ : il a notamment été observé une augmentation légère mais significative du poids de la thyroïde et une augmentation de la prolifération des cellules de la thyroïde, une diminution significative du poids du thymus ou encore une diminution du nombre de corps jaunes.

3.5.2.1 Effets hépatiques

Une étude par exposition subchronique est disponible dans la littérature (Burns-Naas *et al.*, 2002). Vingt rats Fischer 344 par sexe et par groupe ont été exposés (nez seul) 6 heures par jour, 5 jours par semaine à des doses de 0, 420, 1464, 5856 et 10776 mg.m⁻³. Dix animaux supplémentaires par sexe ont été ajoutés dans le groupe contrôle et à 10776 mg.m⁻³ pour étudier la réversibilité des effets pendant 1 mois après la fin du traitement.

Chez les femelles, une augmentation statistiquement significative du poids absolu (20% à 5856 mg.m⁻³, et 25% à 10776 mg.m⁻³ par rapport au groupe contrôle) et relatif du foie est observée. Cependant, chez les mâles, aucune augmentation de poids du foie supérieure à 10% par rapport au groupe contrôle n'est rapportée. Ces changements ne sont plus observés après la période de récupération. Il est à noter qu'aucune modification histopathologique n'est associée.

Des modifications biochimiques sont associées à cette hépatomégalie : une augmentation statistiquement significative des γ -GT à la plus forte concentration chez les mâles (+168%) et aux deux plus fortes concentrations chez les femelles (+330% et +975%), ainsi qu'une augmentation statistiquement significative des ALT à la plus forte concentration chez les deux sexes (mâles : +26%, femelles : +15%) sont observées. Enfin, une diminution statistiquement significative des triglycérides à 1464, 5856 et 10776 mg.m⁻³ est également observée chez les deux sexes.

Parmi ces effets, seule l'augmentation des ALT chez les mâles n'est pas réversible après la période de récupération.

Une étude combinée de toxicité chronique et de cancérogenèse non publiée a été réalisée chez des rats Fischer 344 (Battelle Toxicology Northwest, 2004, rapportée par SCCS, 2010). Quatre groupes de rats ont été exposés (corps entier) à des vapeurs de D4 aux concentrations de 120, 360, 1800 ou 8400 mg.m⁻³, 6 heures par jour, 5 jours par semaines jusqu'à 24 mois. 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 examen histologique a été réalisé au moment du sacrifice ou à la mort des animaux.

Des augmentations statistiquement significatives du poids du foie sont observées dans tous les sous-groupes de l'étude :

- A 6 mois chez les femelles à la plus forte dose (20%) et chez les mâles (16% à 360 mg.m⁻³, 14% à 1800 mg.m⁻³, et 27% à 8400 mg.m⁻³).
- À 12 mois aux deux plus fortes doses (14% et 29% chez les femelles, 16% et 30% chez les mâles) ;
- À 24 mois aux deux plus fortes doses chez les femelles (14% et 29%) et à la plus forte dose chez les mâles (27%).

L'augmentation du poids de foie semble être complètement réversible chez les femelles mais pas chez les mâles, car pour le groupe C, une augmentation relative du poids de foie n'a été observée que chez les mâles (22% à 8400 mg.m⁻³) et pas chez les femelles.

La seule modification histopathologique qui peut être associée à ces augmentations est une hypertrophie des hépatocytes centrolobulaires chez les mâles des sous-groupes B et D, à 8400 mg.m⁻³ (6/10 rats à 12 mois et 5/60 à 24 mois).

Aucune modification significative des paramètres biochimiques n'est associée aux augmentations de poids du foie. Seule la phosphatase alcaline est significativement diminuée à la plus forte dose chez les femelles à 6 (-15%) et 12 mois (-27%), et les deux sexes à 9 mois (mâles : -19%, femelles : -29%). Aucune modification statistiquement significative des γ -GT n'est observée, et les ALT et AST sont pratiquement toujours diminuées de façon dose-dépendante.

3.5.2.2 Effets respiratoires

Dans l'étude de Burns-Naas *et al.* (2002) décrite précédemment (cf. 3.5.2.1), des effets pulmonaires sont rapportés.

Notamment, il est observé une augmentation statistiquement significative du poids absolu des poumons (+5%) chez les femelles et absolu chez les mâles (+7%) à la plus forte concentration. Ces deux augmentations sont réversibles.

De plus, une augmentation concentration dépendante de l'incidence et de la sévérité de l'accumulation de macrophages alvéolaires et de l'inflammation interstitielle est également rapportée chez les deux sexes. Ces effets, bien que diminués, sont toujours observés après arrêt du traitement.

Des effets sur la sphère respiratoire sont également observés dans l'étude de toxicité chronique décrite précédemment (Battelle Toxicology Northwest, 2004, rapportée par SCCS, 2010, cf. 3.5.2.1)

Dans le groupe B, à 8400 mg.m^{-3} , on retrouve quelques effets statistiquement significatifs chez les deux sexes : une hyperplasie modérée des cellules caliciformes de la cavité nasale, une hyperplasie de l'épithélium squameux, une incidence accrue de la rhinite, une augmentation de l'incidence de globules éosinophiles dans le tractus respiratoire et l'épithélium olfactif adjacent. Une inflammation subpleurale chronique modérée, non significative, est observée chez les femelles avec un épaississement des alvéoles adjacentes. Cette lésion arrive spontanément avec l'âge, elle a été observée chez les contrôles femelles.

Dans le groupe D il y a une augmentation significative de l'incidence de l'hyperplasie des cellules caliciformes à 8400 mg.m^{-3} chez les deux sexes et chez les mâles exposés à 1800 mg.m^{-3} . Comme dans le groupe exposé 12 mois, une hyperplasie de l'épithélium squameux est observée, mais qui n'est statistiquement significative que chez les mâles à la plus forte dose. Chez les mâles, aucune augmentation statistiquement significative de la rhinite n'est observée alors que chez les femelles dès 360 mg.m^{-3} cette rhinite apparaît. La présence de globules éosinophiles intracytoplasmiques était notée dans les deux sexes à 8400 mg.m^{-3} et chez les femelles exposées à 1800 mg.m^{-3} et 360 mg.m^{-3} voire 120 mg.m^{-3} . Enfin, une inflammation subpleurale chronique modérée, statistiquement significative est observée chez les femelles à toutes les concentrations.

Dans le groupe C, l'hyperplasie des cellules caliciformes très peu présente chez les deux sexes indique une régression de cette lésion pendant l'année de récupération. Cette lésion était plus importante chez le groupe exposé à 8400 mg.m^{-3} . La rhinite suppurative était parfois présente mais rien ne permettait de distinguer les animaux traités des non traités, et l'inflammation chronique des alvéoles sous pleurales était également peu présente chez les animaux en récupération. Ces données vont dans le sens d'une réversibilité des effets sur la sphère respiratoire.

3.5.2.3 Effets rénaux

Des effets rénaux sont observés dans l'étude de toxicité chronique décrite précédemment (Battelle Toxicology Northwest, 2004, rapportée par SCCS, 2010, cf. 3.5.2.1)

Les auteurs rapportent une augmentation statistiquement significative du poids absolu et relatif des reins pour les rats exposés à 8400 mg.m^{-3} des sous-groupes B et D. Cette augmentation n'est observée que chez les femelles du sous-groupe C. Cet effet serait, selon les auteurs, lié à une néphrotoxicité.

Dans le sous-groupe D, une augmentation statistiquement significative ($p < 0,01$) de la sévérité de la néphropathie chronique chez les rats des deux sexes exposés à 8400 mg.m^{-3} et chez les femelles exposées à 1800 mg.m^{-3} , par comparaison avec le groupe contrôle (présentant également une néphropathie) a été observée.

De façon similaire, dans le sous-groupe C, les animaux des groupes contrôles de l'étude présentaient tous une néphropathie. La sévérité de cette néphropathie chronique apparaissait augmentée modérément dans le groupe exposé à 8400 mg.m^{-3} . L'analyse statistique de ces données indique une augmentation significative de la sévérité chez les mâles exposés à 360, 1800 et 8400 mg.m^{-3} et chez les femelles exposées à 1800 mg.m^{-3} ($p < 0,05$).

Tableau 7 : observations microscopique des lésions du rein

Sexe	Contrôle	120 mg.m^{-3}	360 mg.m^{-3}	1800 mg.m^{-3}	8400 mg.m^{-3}
Groupe D					
Mâles	56/58* 2,4**	58/59 2,6	57/59 2,6	57/60 2,6	60/60 3,3
Femelles	50/59 1,9	52/59 1,9	51/59 1,9	59/60 2,2	58/60 2,4
Groupe C					
Mâles	20/20 2,2	20/20 2,7	20/20 2,8	19/19 2,8	20/20 2,7
Femelles	15/20 1,7	18/20 1,4	18/20 1,7	18/20 2,1	18/20 1,9

* incidence des lésions/nombre total de tissus examinés au microscope

** sévérité moyenne des lésions, 1 = minimale, 2 = moyenne, 3 = modérée et 4 = sévère

3.6 Effets sur la reproduction et le développement

3.6.1 Données chez l'Homme

Aucune donnée de reprotoxicité chez l'Homme n'est disponible.

3.6.2 Données chez l'animal

Les études des effets sur la reproduction animale sont présentées dans les tableaux suivants :

Tableau 8 : Etudes de reproduction (inhalation, corps entier)

Espèce(s)	Doses/durée d'exposition	Effets	Référence
-----------	--------------------------	--------	-----------

Etudes 1 génération			
Rat Sprague Dawley	20 mâles + 20 femelles/dose 0, 840, 8400 mg.m ⁻³ (0, 70 ou 700 ppm) 6 h/jour pendant 28 jours Mâles et femelles : avant et pendant la période d'accouplement et jusqu'au GD 21, puis du LD 4 à la nécropsie	À 8400 mg.m ⁻³ , réduction du nombre de corps jaunes, du nombre de sites d'implantation dans l'utérus, du nombre total de petits par portée et de la taille moyenne des portées de petits vivants (60 à 70% des valeurs des contrôles) ; Pas d'effet sur la viabilité de la portée ; Augmentation du nombre d'éjaculations.	Dow Corning (1996a) rapportée par SCCS (2010)
Rat Sprague Dawley	22 mâles + 22 femelles/dose 0 ou 8400 mg.m ⁻³ (700 ppm) 6 h/jour pendant 28 jours Mâles et femelles : avant et pendant la période d'accouplement et jusqu'au GD 20	Augmentation significative de la durée de gestation (22,3 jours) comparée aux contrôles (21,8 jours) ; À 8400 mg.m ⁻³ , réduction du nombre de corps jaunes, du nombre de sites d'implantation, du nombre total de petits par portée et de la taille moyenne des portées de petits vivants (60 à 70% des valeurs des contrôles) ; Pas d'effet sur la viabilité de la portée ; Augmentation du nombre d'éjaculations.	Dow Corning (1996b) rapportée par SCCS (2010)
Rat Sprague Dawley	22 mâles + 22 femelles/dose 0, 840, 3600, 6000 ou 8400 mg.m ⁻³ (0, 70, 300, 500 ou 700 ppm) 6 h/jour pendant 70 jours Mâles : avant et pendant la période d'accouplement	Les paramètres de reproduction (jours entre l'appariement et le coït, les indices de fertilité et d'accouplement et la durée de gestation et de parturition) n'ont pas été affectés par l'exposition au D4 ; Augmentation de la fréquence d'éjaculation ; Aucun effet noté suite aux examens microscopiques des tissus à la fin de la période de sevrage (semaine 12 des mâles F0) ; La mobilité et la morphologie des spermatozoïdes n'ont pas été affectées ; Pas d'effet sur la taille moyenne des petits ni sur le ratio mâles/femelles ; Aucun signe clinique relié à l'exposition chez les jeunes.	Dow Corning (1997a) rapportée par SCCS (2010)
Rat Sprague Dawley	40 mâles + 40 femelles/dose 0, 6000 ou 8400 mg.m ⁻³ (0, 500 ou 700 ppm) 6 h/jour pendant 70 jours	Les paramètres de reproduction (jours entre l'appariement et le coït, les indices de fertilité et d'accouplement et la durée de gestation et de parturition) n'ont pas été affectés par	Dow Corning (1997b) rapportée par SCCS (2010)

	Mâles : avant et pendant la période d'accouplement et jusqu'au GD 13	<p>l'exposition au D4 ;</p> <p>Augmentation de la fréquence d'éjaculation ;</p> <p>Aucun effet noté suite aux examens microscopiques (mâles F0) ;</p> <p>Pas d'effet sur la taille moyenne des petits ni sur le ratio mâles/femelles ;</p> <p>La survie des jeunes et le poids moyens des jeunes ne sont pas affectés par l'exposition au D4 durant la lactation ;</p> <p>Aucun effet relié à l'exposition n'a été observé lors de la nécropsie des jeunes (F1) au 21^{ème} jour postnatal.</p>	
Rat Crl:CD(SD)	<p>Phase totale</p> <p>24 femelles/dose</p> <p>0, 840, 3600, 6000 ou 8400 mg.m⁻³ (0, 70, 300, 500 ou 700 ppm), 6h/j</p> <p>28 jours avant accouplement jusqu'à GD 19</p>	<p>Toxicité maternelle à partir de 8400 mg.m⁻³ (diminution du gain de poids) ;</p> <p>Réduction du nombre de corps jaunes à partir de 3600 et 6000 mg.m⁻³ (plus observé à la plus forte concentration) ;</p> <p>Réduction du nombre de sites d'implantation et de fœtus viables à 6000 mg.m⁻³.</p>	Meeks <i>et al.</i> , 2007
	<p>Phase pré-accouplement (ovarienne)</p> <p>60 femelles/dose</p> <p>0 ou 8400 mg.m⁻³ (0 ou 700 ppm), 6h/j</p> <p>31 à 3 jours avant l'accouplement</p>	Aucun effet de toxicité maternelle, sur la reproduction ou la portée.	
	<p>Phase d'accouplement</p> <p>60 femelles/doses</p> <p>0 ou 8400 mg.m⁻³ (0 ou 700 ppm), 6h/j</p> <p>3 jours avant accouplement jusqu'à GD 3</p>	<p>Toxicité maternelle (réduction du gain de poids et diminution du poids de l'ovaire) ;</p> <p>Réduction du nombre de corps jaunes, de sites d'implantation, de pertes pré- et post-implantatoires et de fœtus viables.</p>	
	<p>Phase d'implantation</p> <p>24 femelles/dose</p> <p>0 ou 8400 mg.m⁻³ (0 ou 700 ppm), 6h/j</p> <p>GD 2 à GD 5</p>	Aucun effet de toxicité maternelle, sur la reproduction ou la portée.	
Rat	Phase d'accouplement	Réduction du poids de l'utérus gravide, du	Meeks <i>et al.</i> ,

Sprague Dawley	<p>Gpe 1 : 25 femelles</p> <p>Gpe 2 à 5 : 25 femelles/groupe/dose</p> <p>Gpe 6 : 125 femelles/dose</p> <p>Gpe 7 : 70 femelles/dose</p> <p>0 ou 8400 mg.m⁻³ (0 ou 700 ppm)</p> <p>Gpe 1 : pas d'exposition</p> <p>Gpe 2 à 5 : expo 6h 1, 2, 3 et 4 jours avant accouplement</p> <p>Gpe 6 : expo 6h/j de 3 à 1 jours avant accouplement</p> <p>Gpe 7 : expo 6h/j de 3 jours avant accouplement à GD 3</p>	nombre de corps jaunes et non statistiquement significative du nombre de sites d'implantation.	2007
	<p>Phase d'implantation</p> <p>25 femelles/groupe/dose</p> <p>0 ou 8400 mg.m⁻³ (0 ou 700 ppm)</p> <p>Gpe 2 : expo 6h GD 0</p> <p>Gpe 3 : expo 6h GD 1</p> <p>Gpe 4 : expo 6h GD 2</p> <p>Gpe 5 : expo 6h/j de GD 0 à GD 2</p>	Aucun effet de toxicité maternelle, sur la reproduction ou la portée.	
Etudes 2-génération			
Rat Sprague Dawley	<p>30 mâles + 30 femelles/dose</p> <p>0, 840, 3600, 6000 ou 8400 mg.m⁻³ (0, 70, 300, 500 ou 700 ppm)</p> <p>6 h/jour pendant 70 jours</p> <p>Avant et pendant la période d'accouplement et de GD 0 à GD 20 à puis de LD 5 à la nécropsie</p>	<p>Génération F0 et F1 : Dystocie à 6000 et 8400 mg.m⁻³ ;</p> <p>Réductions des tailles moyennes des portées et du nombre de fœtus viables à partir de 6000 mg.m⁻³ à la génération F0.</p> <p>Diminution du nombre de sites d'implantation dose dépendante à la génération F0 ;</p> <p>Réduction des indices de l'accouplement et de fertilité chez la génération F1 à 8400 mg.m⁻³ ;</p> <p>Perturbation du cycle œstral des femelles F2 et sénescence reproductive accélérée des femelles F1 à partir de 8400 mg.m⁻³ ;</p> <p>Pas d'effet sur la distance anogénitale,</p>	Siddiqui <i>et al.</i> (2007)

		<p>l'ouverture vaginale et la séparation balanopréputiale ;</p> <p>Pas d'effet neurotoxique sur le développement pour la génération F2 ;</p> <p>Aucun effet sur les paramètres fonctionnels de la reproduction chez le mâle, la spermatogénèse, l'évaluation microscopique des tissus reproducteurs mâles.</p>	
--	--	--	--

Tableau 9 : Etudes de tératogénicité

Espèce(s)	Doses/durée d'exposition	Effets	Référence
Voie orale			
Lapins New-Zealand	0, 50, 100, 500 ou 1 000 mg/kg/jour De GD 7 à GD 19	Les femelles ont été sacrifiées pour une césarienne le 29 ^{ème} jour de gestation ; Toxicité maternelle < 50 mg/kg/j ; Aucune tératogénicité.	GSPA (1993a) rapportée par SCCS (2010)
Inhalation			
Rat Sprague Dawley	30 rates/doses 0, 1200, 3600 ou 8400 mg.m ⁻³ (0, 100, 300 ou 700 ppm) 6 h/j de GD 6 à GD 15	Césariennes et examens de l'utérus et du fœtus effectués au 20 ^{ème} jour de gestation pour le rat et au 29 ^{ème} pour le lapin ; Toxicité maternelle à 3600 et 6000 mg.m ⁻³ (réductions de consommation de nourriture et de prise de poids) ; Pas de tératogénicité.	GSPA (1993b) rapportée par SCCS (2010)
Lapins New-Zealand	20 lapines/dose 0, 1200, 3600 ou 6000 mg.m ⁻³ (0, 100, 300 ou 500 ppm) (corps entier) 6 h/j de GD 6 à GD 18		
Lapin New-Zealand	6 lapines/dose 0, 1200, 3600 ou 8400 mg.m ⁻³ (0, 10, 100, 300 ou 700 ppm) (corps entier) 6 h/j de GD 6 à GD 18	Les femelles ont été sacrifiées pour une césarienne le 29 ^{ème} jour de gestation ; Toxicité maternelle à 3600 mg.m ⁻³ (réductions de consommation de nourriture et de prise de poids) ; Pas de tératogénicité.	GSPA (1993c) rapportée par SCCS (2010)
Rat Sprague Dawley	6 rates/dose 0, 1200, 3600 ou 8400 mg.m ⁻³ (0, 10, 100, 300 ou 700	Les femelles ont été sacrifiées pour une césarienne le 20 ^{ème} jour de gestation ; Toxicité maternelle à 8400 mg.m ⁻³	GSPA (1993d) rapportée par SCCS (2010)

	ppm) (corps entier) 6h/j de GD 6 à GD 15	(réductions de consommation de nourriture et de prise de poids) ; Pas de tératogénicité.	
--	---	---	--

Chez les animaux, les études où seuls les mâles ont été exposés ne montrent pas d'effets reprotoxiques du D4, seulement des effets de toxicité à dose répétée sur le poids des animaux et leur alimentation. Plusieurs paramètres de la reproduction sont cependant touchés lorsque les femelles sont exposées par inhalation à 6000 ou 8400 mg.m⁻³ (voire 3600 mg.m⁻³ pour certains paramètres) : diminution du nombre de corps jaunes, du nombre de sites d'implantation et réduction du nombre de petits par portée.

Dans une étude menée sur la reprotoxicité du D4, plusieurs périodes de la reproduction ont été investiguées (Meeks *et al.*, 2007).

Lors de l'exposition des rates 2 jours avant et pendant la période d'accouplement jusqu'au 19^{ème} jour de gestation, les auteurs ont rapporté une réduction du nombre de sites d'implantation (- 20,1% et - 32%) et du nombre de fœtus viables (- 24,1% et - 36,5%) chez les rates exposées à 6000 ou 8400 mg.m⁻³, ainsi qu'une augmentation des pertes pré-implantatoires chez les rates exposées à 8400 mg.m⁻³ (voir tableau ci-dessous).

Tableau 10 : Résumé des données fœtales au sacrifice – Phase totale (28 jours avant l'accouplement jusqu'à GD 19)

Groupe (mg.m ⁻³)	0	840	3600	6000	8400
Nombre de femelles gravides	23	22	23	23	21
GD 0–20 : gain de poids corporel (g)					
Moyenne	131	132	132	121	113*
Ecart-type	14,5	19,8	18,3	25,0	28,1
Poids de l'utérus gravide (g)					
Moyenne	72,5	75,7	74,6	61,1	50,6**
Ecart-type	11,08	9,10	19,07	20,49	27,42
Nombre de corps jaunes					
Moyenne	16,2	15,8	14,6*	14,1**	14,7
Ecart-type	2,07	1,82	1,97	2,69	2,48
Nombre de sites d'implantation					
Moyenne	14,7	14,9	13,5	11,6**	10,0**
Ecart-type	1,68	1,88	2,87	3,67	4,03

Pertes pré-implantatoires (% par portée)					
Moyenne	8,6	6,0	7,3	19,4	31,1**
Ecart-type	8,91	6,29	15,64	20,45	26,82
Nombre de fœtus viables					
Moyenne	13,7	13,9	12,8	10,4**	8,7**
Ecart-type	2,27	1,66	3,47	3,80	4,72

Les investigations menées lors de la phase ovarienne (exposition à 8400 mg.m⁻³ de 31 jours avant l'accouplement et de 3 jours après l'accouplement) et de la phase d'implantation (exposition à 8400 mg.m⁻³ du jour de gestation 2 à 5) ne montrent pas de réduction du nombre de corps jaunes ni d'effets sur la survie intra-utérine. De plus, les expositions ayant lieu lors de la phase ovarienne n'ont pas d'effets sur le nombre de sites d'implantation ou sur le nombre de fœtus viables.

Les expositions ayant lieu pendant la période d'accouplement (exposition à 8400 mg.m⁻³ 3 jours avant l'accouplement jusqu'au 3^{ème} jour de gestation) entraînent une réduction du nombre de corps jaunes, du nombre de sites d'implantation, du nombre de fœtus viables et une augmentation des pertes pré- ou post-implantatoires.

Tableau 11 : Résumé des données fœtales au sacrifice – Phase de fertilisation (3 jours avant l'accouplement jusqu'à GD 3)

Groupe (mg.m⁻³)	0	8400
Nombre de femelles gravides	28	19
GD 0–20 : gain de poids corporel (g)		
Moyenne	141	123**
Ecart-type	16,9	22,6
Poids de l'utérus gravide (g)		
Moyenne	77,5	44,5**
Ecart-type	11,1	23,9
Nombre de corps jaunes		
Moyenne	17,1	14,6**
Ecart-type	2,9	2,1
Nombre de sites d'implantation		
Moyenne	15,1	10,4**
Ecart-type	1,7	4,2
Pertes pré-implantatoires (% par portée)		
Moyenne	9,8	28,4**

Ecart-type	12,5	27,2
Résorptions précoces (% par portée)		
Moyenne	6,4	18,0*
Ecart-type	7,1	18,7
Pertes post-implantatoires (% par portée)		
Moyenne	6,4	18,0*
Ecart-type	7,1	18,7
Nombre de fœtus viables		
Moyenne	14,2	8,7**
Ecart-type	2,1	4,2

Dans la même étude les auteurs ont montré que les effets sur la reproduction étaient observés principalement lorsque les femelles étaient exposées peu de temps avant l'accouplement (1 jour avant) ou sur toute la période avant et pendant l'accouplement. Les femelles exposées uniquement 2 ou 3 jours avant l'accouplement ne présentaient pas de modifications des paramètres de reproduction. Dans cette étude, les expositions post-accouplement n'avaient pas d'effets sur la portée.

Une étude menée sur 2 générations (Siddiqui *et al.*, 2007) montre des effets très proches de ceux observés dans l'étude de Meeks *et al.* En particulier, pour la génération F0, une diminution du nombre de sites d'implantation dose dépendante et statistiquement significative à la plus haute dose (- 26,8%) et une diminution du nombre de fœtus viables statistiquement significative aux deux plus hautes doses (- 21,8% et - 27,1%) sont observées. De plus, une réduction dose dépendante et statistiquement significative aux deux plus fortes doses de la taille moyenne des portées est également observée.

Une augmentation de la durée de parturition et des dystocies a été observée mais sans relation dose-réponse dans les générations F0 et F1. Un allongement statistiquement significatif de la durée du cycle œstral a été observé à 8400 mg.m⁻³ pour la génération F1.

Les indices de fertilité et d'accouplement étaient diminués de façon statistiquement significative chez les mâles et les femelles de la génération F1 à la forte dose.

Tableau 12 : Résumé des données fœtales au sacrifice pour la génération F0 (Siddiqui *et al.*)

Groupe (mg.m ⁻³)	0	840	3600	6000	8400
Nombre de sites d'implantation					
Moyenne	14,2	13,7	12,8	11,6	10,4**
Ecart-type	2,9	4,4	3,3	4,6	5

Nombre de fœtus viables					
Moyenne	13,3	13,4	11,9	10,4*	9,7**
Ecart-type	3,3	3,8	3,1	3,8	3,8

Il est à noter que quelques effets non-reprotoxiques² sont observés à la plus forte dose chez les mères de la génération F0. Ceux-ci n'ont cependant pas été considérés pertinents et n'ont donc pas permis d'écarter les effets observés sur la reproduction et le développement.

3.7 Génotoxicité

La grande majorité des tests effectués *in vitro* ont montré des résultats négatifs : tests bactériens de mutation réverse avec et sans activation métabolique (test d'Ames), test de mesure de la réparation de l'ADN sur *E. coli*, test de mesure des dommages primaires de l'ADN sur cellules de lymphome de souris, tests de mesure de l'induction des aberrations chromosomiques et des échanges entre chromatides sœurs sur des cellules de lymphome de souris ou d'ovaires de hamster (SCCS, 2010 ; Vergnes *et al.* 2000).

Seuls les tests d'aberrations chromosomiques et des échanges entre chromatides sœurs avec activation métabolique ont montré des résultats ambigus avec des résultats positifs uniquement à la forte dose cytotoxique (SCCS, 2010).

Les études *in vivo* n'ont pas montré d'effets génotoxiques ou mutagènes du D4, que ce soit dans le test d'aberrations chromosomiques sur cellules de moelle osseuse de rats mâles et femelles après exposition par inhalation, ou dans le test de mutation létale dominante chez le rat après gavage pendant 8 semaines (SCCS, 2010).

3.8 Cancérogénicité

Il n'y a pas de données sur la cancérogénicité chez l'Homme.

Dans l'étude de Battelle Toxicology Northwest (2004) décrite précédemment (cf. 3.5.2.1), la mortalité des animaux du sous-groupe D exposés à 8400 mg.m⁻³ est statistiquement augmentée par rapport aux animaux des groupes contrôle (le taux de survie est de 38% pour les mâles

² Réduction du gain de poids durant la gestation, augmentation du poids du foie, hypertrophie des cellules folliculaires thyroïdiennes, inflammation pulmonaire et histiocytose alvéolaire

exposés à 8400 mg.m⁻³ et de 58% pour les mâles non-exposés, et de 58% chez les femelles exposés à 8400 mg.m⁻³ et de 72% pour les femelles non-exposées).

Chez les mâles, des leucémies à cellules mononucléées ont été observées : 73% dans le groupe contrôle (témoins historiques : 45%), 45% à 120 mg.m⁻³, 43% à 360 mg.m⁻³, 48% à 1800 mg.m⁻³ et 69% à 8400 mg.m⁻³. Il peut être noté que la fréquence dans le groupe contrôle est particulièrement importante par rapport aux témoins historiques. Au contraire, à 120, 360 et 1800 mg.m⁻³, la fréquence est similaire à celle des témoins historiques. Cet effet n'est pas retrouvé chez les femelles.

Les auteurs rapportent également une augmentation du poids relatif et absolu de l'utérus (46%) chez les femelles du sous-groupe D exposées à 8400 mg.m⁻³. L'examen histologique a montré une augmentation statistiquement significative de l'incidence et de la sévérité des hyperplasies endothéliales par rapport au groupe contrôle. Quatre des 35 femelles exposées à 8400 mg.m⁻³ et ayant survécu les 2 ans présentaient des adénomes au niveau de l'utérus.

3.9 Mécanismes d'action/Extrapolation de l'animal à l'Homme

3.9.1 Toxicité hépatique

Des études ont été réalisées pour identifier le mode d'action du D4 concernant les effets hépatiques.

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 pendant 4 jours par gavage à des doses de 0, 1, 5, 20 ou 100 mg/kg de D4, dissous dans de l'huile de maïs, ou à 50 mg/kg de phénobarbital par voie intrapéritonéale (Zhang *et al.*, 2000).

L'induction du CYP1A1/2 a été déterminée par la mesure de l'activité de la 7-éthoxyrésorufine O-dééthylase microsomale (EROD) et la mesure de l'enzyme CYP1A1/2, et l'induction du CYP2B1/2 par la mesure de l'activité de la 7-pentoxyrésorufine O-dépentylase microsomale (PROD) et par la mesure de l'enzyme CYP2B1/2. L'induction de l'enzyme 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 13 : Activités des enzymes PROD et EROD

Dose (mg/kg)	PROD (pmol/min par mg)		EROD (pmol/min par mg)	
	Mâles	Femelles	Mâles	Femelles
0	13,4 ± 3,8	2,7 ± 0,2	49,8 ± 15,2	50,1 ± 6,8
1	17,2 ± 4,1	3,8 ± 0,6	44,1 ± 3,2	55,2 ± 30,7

5	39,8 ± 12,7*	6,7 ± 1,3	58,8 ± 2,1	59,7 ± 15,8
20	172 ± 55,6*	36,3 ± 12,6*	83,2 ± 36,1*	89,3 ± 11,3
100	290 ± 38,4*	36,6 ± 7,6*	88,8 ± 2,7*	85,3 ± 2,7*
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 l'induction de l'enzyme CYP1A1/2, qui n'est pas affectée par le traitement au D4. Au contraire, l'induction de l'enzyme CYP2B1/2 augmente de façon similaire à l'activité de PROD. Une induction significative de l'enzyme a été observée pour CYP3A1/2 chez les mâles traités avec 100 mg/kg de D4. Chez les femelles, une augmentation dose dépendante est observée dès 20 mg/kg. L'enzyme NADPH cytochrome P450 réductase est également significativement augmentée chez les femelles traitées à 100 mg/kg (Zhang *et al.*, 2000).

McKim *et al.* (1998) ont exposé 3 à 6 rats Fischer 344 à 840 ou 8400 mg.m⁻³ (corps entier), 6h/j, 5j/semaine, pendant 28 jours. L'activité enzymatique ainsi que les niveaux enzymatiques ont été évalués.

Il est observé une augmentation de 2 à 3 fois de l'activité de CYP1A1/2 durant la période d'exposition. Cependant, l'observation des enzymes n'a révélé aucune induction de CYP1A1 et une suppression de CYP1A2. L'activité enzymatique de CYP2B1/2 a été augmentée dès 3 jours d'exposition aux 2 concentrations testées. L'activité de PROD était augmentée d'un facteur 10 et d'un facteur 20 à 840 et 8400 mg.m⁻³ à la fin des 28 jours, et de l'induction de l'enzyme était similaire. Enfin, il a été observé une augmentation de l'activité et une induction de l'enzyme CYP 3A1/2.

Des rats Sprague-Dawley ont été exposés à 0, 5, 20 ou 100 mg/kg/jour de D4 dilué dans de l'huile de maïs (nombre d'animaux par dose non précisé). Trois profils de rats différents ont été utilisés : des rats jeunes, des femelles gestantes, et des femelles matures (femelles ayant eu déjà 4-5 portées). L'exposition au D4 a eu lieu pendant 8 jours consécutifs (Falany et Li, 2005).

Il est observé une induction statistiquement significative de CYP2B1/2 chez les jeunes et les femelles matures (5, 20 et 100 mg/kg) et les femelles gestantes (20 et 100 mg/kg). L'induction de PROD est statistiquement significative à 20 et 100 mg/kg chez tous les rats et également à 5 mg/kg chez les femelles matures.

Il est également observé une induction statistiquement significative de EROD chez les femelles matures et gestantes à 20 et 100 mg/kg. Cependant, cela n'est pas corrélé à une augmentation de l'activité de CYP1A/2.

Enfin, il est observé une induction statistiquement significative de l'enzyme hépatique CYP3A1/2 chez les femelles matures (5, 20 et 100 mg/kg), les jeunes, et les femelles gestantes (20 et 100 mg/kg).

Ces résultats, très comparables entre les trois études, tendent à confirmer que le D4 est bien un inducteur enzymatique. La comparaison avec le phénobarbital dans l'étude de Zhang *et al.* (2000) montre que même si les effets peuvent être comparés, ce dernier à une action bien plus importante.

3.9.2 Toxicité pour la reproduction

La publication de Quinn *et al.* (2007a) met en évidence une faible capacité du D4 à lier et activer le récepteur ER α mais pas l'ER β *in vitro*. Toutefois ces effets sont observés uniquement à forte concentration, ce qui suggère une très faible affinité du D4 pour l'ER α .

In vivo, des effets de type œstrogénomimétiques faibles ont été observés sur des tests utéro-trophiques sur rates ovariectomisées exposées à 8400 mg.m⁻³ par voie respiratoire.

Un potentiel anti-œstrogénique faible est mis en évidence chez les rates de souche Fischer uniquement. Aucune activité anti-androgénique n'a pu être mise en évidence dans un test de Hershberger. Dans les autres études *in vivo*, les auteurs réfutent la possibilité d'un mécanisme d'action œstrogénomimétique car aucun effet n'a pu être noté sur des paramètres considérés comme des marqueurs pertinents de l'activité œstrogénique (distance anogénitale, séparation préputiale et âge à l'ouverture vaginale). Or s'il est indéniable qu'un effet positif sur ces paramètres dénote une activité œstrogénique, le contraire n'est pas vrai ; ces effets pouvant être modulés en fonction des affinités respectives pour les différents types de récepteurs aux œstrogènes et/ou voies de signalisation mises en jeu (Quinn *et al.*, 2007a).

Par ailleurs, une étude par voie orale a été réalisée chez le rat (Fisher 344 et Sprague-Dawley) afin d'étudier le potentiel anti-œstrogénique du D4 lors d'expositions de courte durée (10, 50, 100, 250, 500 ou 1 000 mg/kg/j pendant 4 jours). Les effets du D4 sur l'utérus des rates ont été comparés aux effets de l'éthinylestradiol, du dipropionate de diéthylstilbestrol et du coumestrol. Tous les composés ont été administrés dans de l'huile de maïs (5 ml/kg) par gavage de 18 à 21 jours après la naissance (12 animaux par groupe de dose et 1 groupe de 12 animaux non-exposés). Les auteurs rapportent une augmentation du poids relatif de l'utérus et des modifications histologiques à partir de 100 mg/kg/j. L'augmentation maximale de poids de l'utérus induit par le D4 a été observée pour la dose de 1000 mg/kg/j (comparé au contrôle) et était d'environ 160% pour les rats Sprague-Dawley et 86% pour les rats Fischer (McKim *et al.*, 2001b).

Lee *et al.* (2015) ont également étudié le potentiel œstrogénique du D4 *in vitro* et *in vivo* chez des rats Sprague Dawley.

Les auteurs ont regardé l'expression de calbindin-D9k (CaBP-9K), un biomarqueur pour l'œstrogénicité, suite à une exposition des cellules GH3 de la glande pituitaire de rats. Dans ce premier essai, le D4 augmente l'expression de l'ARNm et de la protéine CaBP-9K ainsi que de l'ARNm et de la protéine du récepteur à la progestérone (PR). Cependant, le D4 diminue

l'expression de l'ARNm et de la protéine de l'ER α . Le D4 a donc des effets similaires à l'œstradiol bien que moins marqués.

Un test utéro-trophique a également été réalisé après administration de D4 à des rates à des doses de 500 et 1000 mg/kg. Les résultats indiquent que l'effet du D4 n'est pas suffisamment fort pour induire des modifications sur l'utérus.

Enfin, l'expression de CaBP-9K a également été analysée *in vivo* après administration de D4 à des rates aux doses de 500 et 1000 mg/kg. Comme pour les résultats du test *in vitro*, le D4 augmente l'expression de l'ARNm et de la protéine CaBP-9K et diminue l'expression de l'ARNm et de la protéine de l'ER α . Cependant, contrairement au test *in vitro*, il diminue l'expression de l'ARNm et de la protéine du PR.

Quinn *et al.* (2007b) ont également étudié les niveaux d'hormones chez des rats Sprague-Dawley suite à une exposition de 3 jours à 8400 ou 10800 mg.m⁻³ de D4.

Concernant l'effet du D4 sur le pic de LH, les niveaux plasmatiques sont significativement diminués à 18h le jour du proestrus aux deux doses. Quand les données sont centrées sur le pic de LH (celui-ci pouvant avoir quelques différences temporelles selon les rats), la significativité statistique de la diminution des niveaux plasmatiques de LH n'est plus visible qu'à 10800 mg.m⁻³. Tous les animaux qui n'ont pas pu produire ce pic de LH n'ont pas ovulé. L'exposition au D4 a en conséquence diminué significativement le nombre d'animaux ayant ovulé (79% chez les contrôles, 42% à 8400 et 31% à 10800 mg.m⁻³). Aucune modification notable n'est observée sur les niveaux plasmatiques de prolactine. Enfin, en phase de proestrus, il peut être observé une augmentation des niveaux d'œstrone et de progestérone aux deux doses.

En phase d'œstrus, il est observé une augmentation des niveaux plasmatiques d'œstrone, d'œstradiol et une diminution des niveaux de FSH, aux deux doses.

Enfin, les auteurs ont également analysé la morphologie des oviductes des rats. Le nombre d'œufs est significativement réduit aux deux doses de traitement. Cependant, quand les données sont analysées par statut d'ovulation, cette différence n'est plus significative.

Une étude *in vitro* a été menée par Plotzke *et al.* (2006) sur le potentiel du D4 à agir comme un ligand de récepteur de progestérone. Les auteurs ont testé le récepteur de progestérone HitHunter™ pour évaluer la liaison potentielle du D4 au récepteur alpha recombinant de progestérone humain ainsi que le test commercial du gène rapporteur PR CALUX® Bioassay pour évaluer son action comme ligand fonctionnel pour le récepteur bêta. L'éthanol a été utilisé comme véhicule dans chaque essai et les concentrations nominales utilisées de D4 étaient de 0,1 – 1000 μ M dans le test HitHunter™ et de 10⁻⁶ – 3000 μ M pour le test PR CALUX® Bioassay. Aucune liaison avec les récepteurs α ou β n'a été observée. Il n'y a donc pas d'évidence d'activation du récepteur de progestérone par le D4 chez l'Homme.

Les effets décrits sur la reproduction mâle et femelle sont souvent observés à des doses fortes (à partir de 6000 mg.m⁻³). A ces doses, les auteurs rapportent des signes de stress comme une réduction de poids corporel et de prise alimentaire.

En ce qui concerne l'étude de Siddiqui *et al.* (2007), différents effets sont notés sur la reproduction aux plus fortes doses. Ces altérations sont observées de concert avec de faibles signes de toxicité générale qui pourraient laisser penser qu'une partie des effets observés sur la reproduction pourraient relever d'une toxicité générale (notamment la diminution de la taille de la portée). Cependant, ces effets de toxicité générale sont considérés comme transitoires et adaptatifs.

Siddiqui *et al.* (2007) concluent que le D4 altère les fonctions de reproduction en supprimant ou retardant la décharge ovulante de LH. Une homologie d'action avec le phénobarbital (un barbiturique qui agit sur les récepteurs GABA et sur une multitude d'autres récepteurs) est suggérée sans qu'aucune preuve ne soit apportée pour conforter cette hypothèse. L'effet inhibiteur des barbituriques sur le pic préovulatoire de LH ne relève pas de leur action en tant qu'inducteur hépatique mais procède de leur action au niveau du système nerveux central. Par ailleurs, l'effet des barbituriques sur la sécrétion de LH est relativement peu spécifique et résulte de leur action inhibitrice de la libération de différents neuromédiateurs dans le système nerveux central.

Les auteurs s'appuient par la suite sur cette hypothèse pour conclure que le D4 ne peut affecter la reproduction chez la femme en raison d'une régulation ovarienne de la décharge ovulante chez celle-ci (et donc de l'absence de toute régulation centrale). Or, cette argumentation semble infondée pour les raisons suivantes :

- Chez les rongeurs comme chez les primates, mammifères à ovulation spontanée, la décharge ovulante de LH est induite par l'augmentation des niveaux ovariens d'œstradiol qui agissent par la suite au niveau central (Bakker et Baum, 2000). Parmi les facteurs régulés par l'œstradiol au niveau central figurent le kisspeptine, la noradrénaline, le NPY, les opiacés, le monoxyde d'azote...
- Aucune preuve n'a été pour le moment rapportée dans la littérature quant à l'absence d'une régulation centrale chez la femme. L'un des deux papiers (Ordog *et al.*, 1998) cité par les auteurs pour étayer leur propos explore en fait l'implication de l'œstradiol au niveau hypophysaire dans la régulation de la décharge ovulante de LH.

Un travail effectué chez la femme suggère d'ailleurs un effet de barbituriques (utilisé comme antiépileptique) sur les niveaux de LH (Rościszewska *et al.*, 1985).

Ainsi, les effets sur la reproduction observés chez l'animal après exposition au D4 ne peuvent pas être exclus chez l'humain.

4 Recueil des valeurs toxicologiques de référence

Aucune VTR existante à ce jour pour le D4.

5 Proposition de VTR chronique par inhalation

5.1 Choix de l'effet critique

Plusieurs effets ont été observés dans les différentes études disponibles sur le D4 :

- **Effets hépatiques** : les effets hépatiques sont les effets les plus fréquemment observés dans le panel d'études réalisées sur le D4. 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 est associée, dans l'étude de Burns-Naas *et al.* (2002), à une forte augmentation des γ -GT à la plus forte concentration chez les mâles (168%), et aux deux plus fortes concentrations chez les femelles (330% à 5856 mg.m⁻³ et 975% à 10776 mg.m⁻³), ainsi qu'à une légère augmentation des ALT à la plus forte concentration chez les deux sexes (mâles : 26%, femelles : 15%). Il n'est cependant pas observé dans cette étude de lésions histopathologiques. Dans son guide sur les effets hépatiques, l'US EPA (2002), précise que l'augmentation des ALT ne devrait pas être considérée adverse avant d'avoir atteint 2 ou 3 fois les niveaux du groupe contrôle. Au contraire, selon l'US EPA, l'augmentation des γ -GT dans cette étude est suffisante pour signer la toxicité d'un composé sur le foie. L'US EPA précise également qu'en l'absence de lésions histopathologiques, les niveaux sériques d'au moins deux paramètres sériques devraient être significativement augmentés pour que cela puisse être assimilé à une toxicité hépatique. En conséquence, le manque de reproductibilité de cette augmentation de γ -GT entre les études, et le fait que cette augmentation ne soit pas associée à d'autres modifications de paramètres biochimiques ou histopathologiques dans cette même étude serait donc en faveur d'un effet adaptatif du foie, et non d'une toxicité.
- **Effets respiratoires** : les effets respiratoires observés (hyperplasie des cellules caliciformes, hyperplasie de l'épithélium squameux, augmentation de l'incidence de globules éosinophiles dans le tractus respiratoire...) sont des effets locaux peu spécifiques, considérés comme relatifs à l'anatomie du rat. En effet, chez les rats, l'épithélium olfactif est beaucoup plus développé que chez l'Homme, ce qui rend donc ces effets difficilement transposables à l'Homme ;
- **Effets rénaux** : les effets sur le rein ne démontrent pas de relation dose réponse, et aucun marqueur sérique ne permet de prouver une altération fonctionnelle ;
- **Toxicité sur la reproduction** : deux études sont disponibles pour évaluer les effets sur la reproduction du D4 (Meeks *et al.*, 2007 ; Siddiqui *et al.*, 2007) et présentent une grande cohérence dans les résultats obtenus. Le nombre de corps jaunes est diminué, mais cet effet est difficilement exploitable : il est en effet difficile d'établir une relation dose réponse. Les effets retenus sont donc de deux types : une diminution du nombre de sites d'implantations et une diminution du nombre de foetus viables. Ces effets, statistiquement

significatifs aux deux plus fortes doses (6000 et 8400 mg.m⁻³) et présentant une relation dose réponse, sont observés dans ces deux études et ne peuvent pas être exclus chez l'Homme (cf. 3.9.2).

Concernant ces effets sur la reproduction, les deux paramètres retenus ont été analysés (diminution du nombre de sites d'implantations et diminution du nombre de foetus viables).

Suite à la construction d'une benchmark concentration (BMC), la diminution du nombre de sites d'implantation semble se déclarer à une concentration légèrement plus basse. Ce paramètre a donc été retenu pour la construction d'une VTR.

5.2 Analyse des VTR existantes

Aucune VTR existante à ce jour pour le D4.

5.3 Construction de VTR

5.3.1 Choix de l'étude clé

Deux études mettent en évidence une diminution de nombre de site d'implantation chez le rat avec des résultats très comparables : Siddiqui *et al.* (2007) et Meeks *et al.* (2007).

Les protocoles d'exposition sont légèrement différents : dans l'étude de Siddiqui *et al.* (2007), 30 rats par sexe et par dose sont exposés pendant 70 jours avant l'accouplement jusqu'au sevrage. Dans l'étude de Meeks *et al.* (2007), 20 rats femelles par dose sont exposées pendant 19 jours avant l'accouplement jusqu'au 19^{ème} jour de gestation.

De plus, l'étude de Siddiqui *et al.* (2007) a été conduite selon les lignes directrices OPPTS et selon les BPL, ce qui n'est pas le cas de l'étude de Meeks *et al.* (2007).

Compte tenu de ces observations, l'étude clé retenue pour la construction de la VTR du D4 est l'étude de Siddiqui *et al.*, 2007.

Le CES a considéré qu'il était pertinent de construire une VTR chronique à partir d'une diminution du nombre de sites d'implantation :

- c'est l'effet apparaissant aux doses les plus faibles ;
- des rats des deux sexes sont exposés dans l'étude de Siddiqui *et al.* (2007), et les mâles ne présentent aucun signe de toxicité. Ils seront donc protégés par une VTR chronique basée sur une diminution du nombre de site d'implantation ;
- dans l'étude de Siddiqui *et al.* (2007), les animaux sont exposés 70 jours : même s'il a été montré que l'effet peut se déclarer suite à une exposition très courte, une telle durée exposition (ainsi que les études subchroniques et chroniques sur la substance) démontre

qu'il n'y a pas d'effet survenant suite à des expositions plus longues, et que l'on est bien face à l'effet le plus sensible.

5.3.2 Choix de la dose critique

Les données expérimentales établies chez le rat sur la diminution du nombre de sites d'implantation 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 5% (BMR recommandé par l'Anses et l'EFSA pour les données quantales pour des effets sur la reproduction)

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 D4, le modèle s'ajustant le mieux aux données expérimentales est le modèle exponentiel.

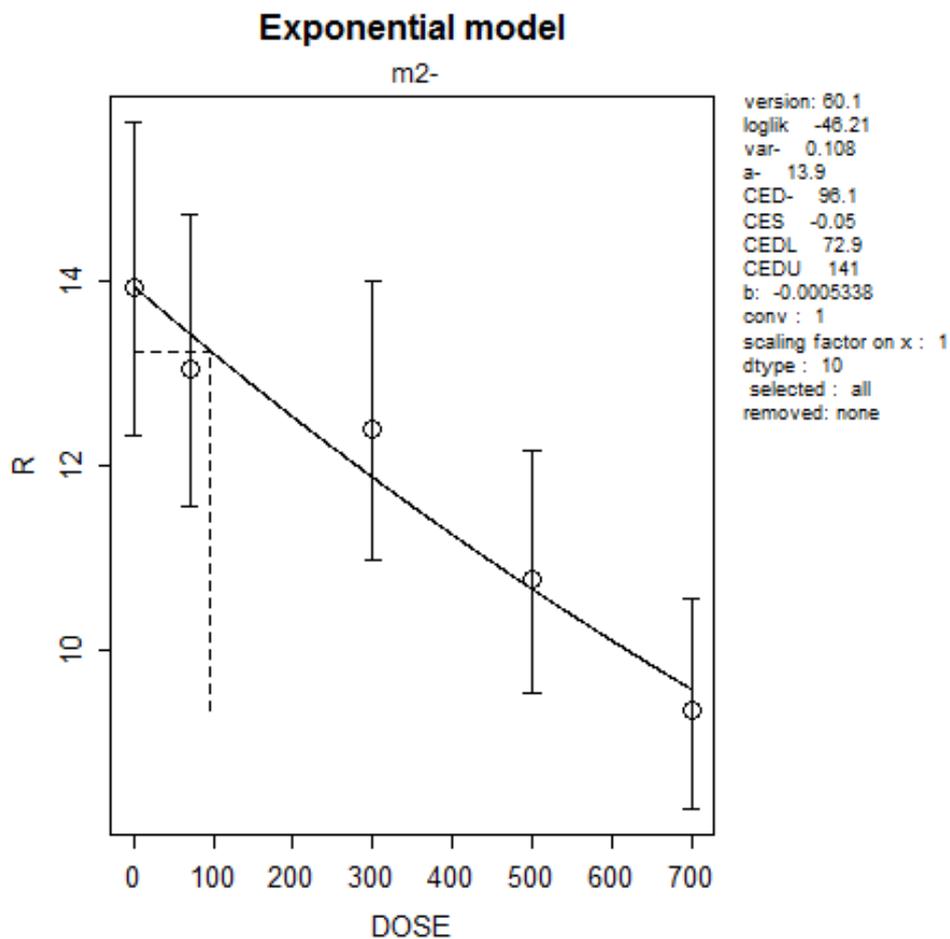


Figure 2 : Modélisation de la diminution du nombre de sites d'implantation

Les valeurs retenues chez le rat sont les suivantes :

- $BMC_{5\%}$: 96 ppm
- $BMC_{5\%L_{95\%}}$: 72,9 ppm

5.3.3 Ajustement temporel

Les animaux ont été exposés 6 h/j. Cependant, compte tenu de la nature de l'effet et des expérimentations réalisées dans l'étude de Meeks *et al.* (2007) montrant que l'effet ne se développe que sur des fenêtres d'exposition très courtes, il n'a pas été considéré nécessaire de réaliser un ajustement temporel.

5.3.4 Ajustement dosimétrique

Des modèles PBPK ont été développés, permettant de modéliser le devenir du D4 dans les organismes de différentes espèces tel que le rat (Andersen, *et al.*, 2001, Sarangapani *et al.*, 2003,

McMullin *et al.*, 2016) ou l'Homme (Reddy *et al.*, 2008, McMullin *et al.*, 2016) pour différentes voies d'exposition (orale, respiratoire, cutanée).

La démarche via l'utilisation du modèle consiste à convertir la dose externe d'exposition chez l'animal en une dose interne à l'aide d'un modèle PBPK (exprimé en mg/L).

Ainsi, pour une dose critique calculée ($BMD_{5\%L_{95\%}} = 72,9$ ppm) chez le rat, la dose interne associée serait de 0,6 mg/L.

Chez l'Homme, on peut s'attendre à ce qu'une même quantité interne provoque les mêmes effets.

A partir de la dose interne calculée précédemment chez le rat, la dose d'exposition en D4 chez l'Homme a été estimée à partir d'un modèle PBPK développé par McMullin (2016).

Ainsi, une exposition journalière à une concentration de D4 de **160 ppm, soit 1920 mg.m⁻³** entraînerait une quantité de substance en interne proche de 0,6 mg/L. Cette valeur peut être considérée comme la $BMC_{5\%L_{95\%}}_{HEC}$.

Quelques doutes peuvent néanmoins exister quant à l'utilisation des deux modèles PBPK développés par McMullin *et al.* (2016) pour établir la valeur de la $BMC_{5\%L_{95\%}}_{HEC}$ de 160 ppm :

1. Les données expérimentales et le développement des modèles PBPK proviennent d'un même groupe d'auteurs, financées par Dow Corning Corporation et le Silicones Environmental, Health, and Safety Council of North America.
2. Les modèles PBPK développés chez le rat proviennent d'une seule expérimentation animale faite à 84, 840 et 8400 mg.m⁻³ en 2000 (Plotzke *et al.*, 2000). En 2001, Andersen *et al.* a publié un premier modèle en s'appuyant uniquement sur les données expérimentales obtenues à la dose saturante de 8400 mg.m⁻³. En 2003, Sarangapani *et al.*, a repris ce modèle à cette même dose. En 2016, McMullin publie une nouvelle version du modèle dans laquelle sont utilisées les concentrations de D4 plasmatiques à 8400 mg.m⁻³, mais aussi à 840 mg.m⁻³ soit seize ans après les expérimentations réalisées chez l'animal par Plotzke *et al.* (2000).
3. Dans la publication de McMullin *et al.* (2016), utilisée pour estimer la $BMC_{5\%L_{95\%}}_{HEC}$, les concentrations de D4 plasmatique juste après la fin de l'exposition ne sont pas mentionnées à 840 et 8400 mg.m⁻³, contrairement aux publications précédentes de Andersen *et al.* (2001) et de Sarangapani *et al.* (2003). De plus, ces auteurs mentionnent une concentration plasmatique de D4 chez des animaux sacrifiés 6 h après la fin de l'exposition, alors que dans la publication de Plotzke *et al.* (2000), dont sont issues les données expérimentales, aucun lot d'animaux n'a été sacrifié à ce temps. Grâce aux données brutes, il a pu être identifié une erreur de retranscription de l'auteur.
4. Le modèle PBPK a été développé chez l'Homme à partir d'un protocole d'exposition assez particulier : les volontaires sont exposés à 10 ppm pendant 1 h en alternant des périodes de repos et d'exercice (Utell 2000, rapport pour Dow Corning Corporation non publié, cité par Reddy *et al.*, 2003). Pendant la période d'exercice, leur taux de ventilation respiratoire est multiplié par un facteur 3-4. L'augmentation de la quantité inhalée pendant les périodes

d'exercice a pu conduire à une augmentation des concentrations plasmatiques obtenues en fin d'exposition.

5. Les paramètres de métabolisation du D4 ainsi que son coefficient de partition air/sang utilisés dans le modèle ne correspondent pas à des données expérimentales mais ont été établis pour ajuster le modèle aux données expérimentales. En particulier le coefficient de partition déterminé *in vitro* avec du sang de rat par Andersen *et al.*, (2001) ou par Dobrev *et al.* (2008) est respectivement de 4,31 et 3,66 alors que la valeur retenue par les McMullin *et al.* (2016) pour établir leur modèle PBPK est de 0,85 chez le rat et de 0,96 chez l'Homme.
6. Les modèles PBPK chez le rat ont été établis à partir des données de Plotzke *et al.* 2000 et n'ont pas été validés avec des données issues d'autres expérimentations.

Malgré cela, et considérant les limites de l'étude humaine pour réaliser l'ajustement, il a été fait le choix d'utiliser le modèle PBPK développé par McMullin *et al.* (2016). En effet, en utilisant les concentrations plasmatiques en fin d'exposition chez le rat (Plotzke *et al.*, 2000) et les volontaires (Utell, 2000), la concentration plasmatique de 0,6 mg/L, définie chez le rat pour une $BMC_{5\%L_{95\%}}_{HEC}$, correspondrait à une exposition de l'ordre de 100 ppm chez l'Homme au repos au lieu de 160 ppm.

5.3.5 Choix des facteurs d'incertitude

Le calcul de la VTR à partir de la $BMC_{5\%L_{95\%}}_{HEC}$ a été effectué à l'aide des facteurs d'incertitude suivants (Anses, 2015) :

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

L'utilisation du modèle PBPK a permis de calculer une concentration équivalente humaine (McMullin *et al.*, 2016). Pour tenir compte de la variabilité toxicodynamique et d'incertitudes résiduelles, un facteur d'incertitude supplémentaire a été fixé à 2,5 selon les recommandations de l'IPCS (IPCS, 2005) et sur la base des pratiques de l'Anses.

- Variabilité interindividuelle (UF_H) : 4,2

La valeur utilisée par défaut pour ce facteur est 10, divisée en deux composantes, une toxicocinétique de 3,16 et une toxicodynamique de 3,16.

Afin d'affiner la composante toxicocinétique, le modèle PBPK a été utilisé, conformément aux propositions de l'OMS (McMullin *et al.*, 2016). Dans ce modèle, la variation par défaut appliquée à chaque paramètre physiologique (volumes tissulaires, débits sanguins) a été établie à +/- 50%. Concernant le poids corporel, les données de l'étude INCA2 ont été utilisées, aboutissant à une moyenne de 60,5 kg +/- 20,62 chez les 3-79 ans.

Avec 1000 itérations, les concentrations veineuses obtenues pour la médiane, le 95^{ème} percentile et le 5^{ème} percentile sont les suivantes sur 6 heures d'exposition :

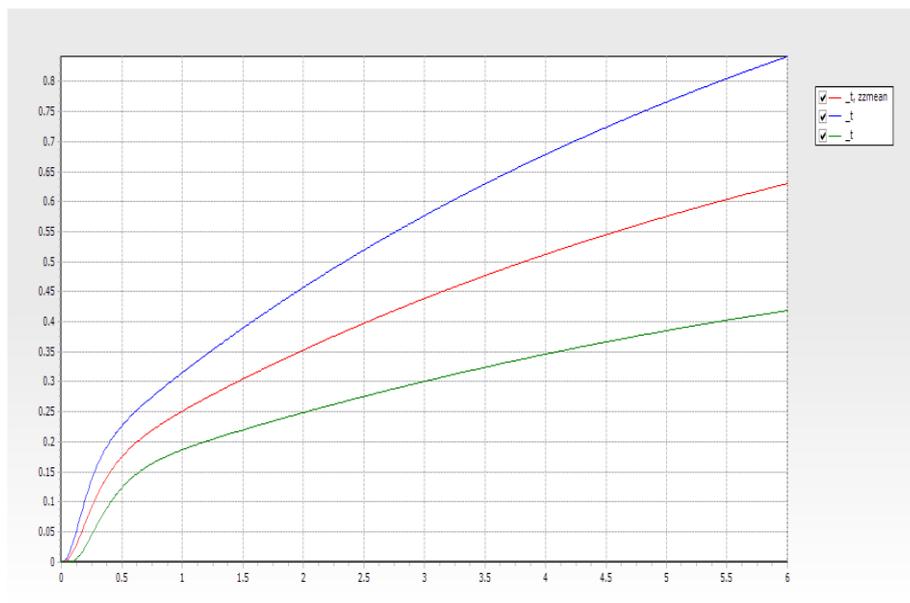


Figure 3 : Concentrations veineuses obtenues grâce au modèle PBPK sur 6 heures d'exposition (5^{ème} percentile en vert, médiane en rouge, 95^{ème} percentile en bleu)

L'estimation de cet UF_{H-TK} s'obtient alors en faisant le ratio du 95^{ème} percentile et de la médiane de la concentration veineuse au bout de 6 heures d'exposition, soit $0,84/0,63 = 1,33$

$$UF_H = UF_{H-TD} \times UF_{H-TK} = 3,16 \times 1,33 = 4,2$$

- 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 dans laquelle les animaux ont été exposés 70 jours. Cependant, il est constaté que ce temps d'exposition couvre un cycle de reproduction complet, et qu'aucun effet plus sensible n'est observé dans les études par exposition subchronique ou chronique. L'utilisation d'un UF_S n'est donc pas jugé pertinente.

- 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 D4 sont jugées suffisantes pour la construction de la VTR.

Un facteur d'incertitude global de **10,5** est donc utilisé pour la construction de la VTR.

5.3.6 Proposition de VTR chronique par inhalation

$$\text{VTR} = 15,2 \text{ ppm, soit } 183 \text{ mg.m}^{-3}$$

5.3.7 Niveau de confiance

Le niveau de confiance global a été attribué à cette VTR 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 : Moyen

L'effet est robuste, retrouvé à des niveaux similaires dans les deux études l'évaluant. Cependant, le mode d'action n'est pas élucidé.

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

Il s'agit d'une étude bien détaillée qui suit les lignes directrices OPPTS et qui a été conduite selon les BPL. Cette étude est de plus confortée par l'étude de Meeks *et al.* (2007).

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

La qualité de la relation dose réponse est bonne, la construction d'une BMC a été possible.

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

6 Conclusions du CES

Une VTR chronique par inhalation est proposée pour le D4 basé sur la diminution du nombre de sites d'implantation (Tableau 14). Un niveau de confiance fort a été attribué à cette VTR.

Tableau 14 : VTR chronique par respiratoire pour le D4

Effet critique (étude clé)	Concentration critique	UF	VTR
Diminution du nombre de sites d'implantation Siddiqui <i>et al.</i> , 2007	$BMC_{5\%L_{95\%}} = 72,9 \text{ ppm}$	10,5	VTR = 183 mg.m⁻³ Soit 15,2 ppm
	$BMC_{5\%L_{95\% \text{ HEC}}} = 160 \text{ ppm}$	UF _A : 2,5 UF _D : 1 UF _H : 4,2 UF _L : 1 UF _S : 1	Niveau de confiance : Fort

Date de validation du rapport d'expertise collective par le comité d'experts spécialisé : le 20/10/2016.

Signature :

7 Bibliographie

Date de fin de la bibliographie : Février 2016

Agence Européenne des Produits Chimiques (ECHA). Substances enregistrées. Octaméthylcyclotétrasiloxane. <http://echa.europa.eu/fr/registration-dossier/-/registered-dossier/15289> (consulté le 26/02/2016)

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.

Andersen M.E., Sarangapani R., Reitz R.H., Gallavan R.H., Dobrev I.D., Plotzke K.P. (2001) Physiological modeling reveals novel pharmacokinetic behavior for inhaled octamethylcyclotetrasiloxane in rats. *Toxicological Sciences* 60(2): 214-231

Bakker, J, Baum, MJ (2000). Neuroendocrine regulation of GnRH release in induced ovulators. *Frontiers in Neuroendocrinology* 21(3):220-262

Brisson J, Holowaty EJ, Villeneuve PJ, et al. (2006). Cancer incidence in a cohort of Ontario and Quebec women having bilateral breast augmentation. *Int J Cancer* 118(11):2854-62.

Burns-Naas LA, Meeks RG, Kolesar GB, et al. (2002). Inhalation toxicology of octamethylcyclotetrasiloxane (D4) following a 3-month nose-only exposure in Fischer 344 rats. *Int J Toxicol* 21:39-53.

Carpenter CP, Weil CS, Smyth HF. (1974) Range-Finding Toxicity Data: List VIII. *Toxicology And Applied Pharmacology* 28,313-319

Dobrev ID, Nong A, Liao KH, Reddy MB, Plotzke KP, Andersen ME. (2008). Assessing kinetic determinants for metabolism and oral uptake of octamethylcyclotetrasiloxane (D4) from inhalation chamber studies. *Inhal Toxicol* 20(4):361-73.

Falany CN and Li G. (2005). Effects of age and pregnancy on cytochrome P450 induction by octamethyltetracyclosiloxane in female Sprague-Dawley rats. *J Biochem Mol Toxicol* 19(2):129-38.

Hanssen L, Warner NA, Braathen T, et al. (2013). Plasma concentrations of cyclic volatile methylsiloxanes (cVMS) in pregnant and postmenopausal Norwegian women and self-reported use of personal care products (PCPs). *Environ Int* 51:82-7.

International Program on Chemical Safety (IPCS) (2005) Harmonization Project Document No. 2 Chemical-specific adjustment factors for interspecies differences and human variability: guidance document for use of data in dose/concentration assessment (OMS, Genève) 100p.

- Jovanovic ML, McMahon JM, McNett DA, Tobin JM, Plotzke KP. (2008) In vitro and in vivo percutaneous absorption of ¹⁴C-octamethylcyclotetrasiloxane (¹⁴C-D4) and ¹⁴C-decamethylcyclopentasiloxane (¹⁴C-D5). *Regul Toxicol Pharmacol* 50:239-48.
- Klykken PC, Galbraith TW, Kolesar GB, et al. (1999). Toxicology and humoral immunity assessment of octamethylcyclotetrasiloxane (D4) following a 28-day whole body vapor inhalation exposure in Fischer 344 rats. *Drug Chem Toxicol* 22(4):655-77.
- Lee D, Ahn C, An B-S, Jeung E-B. (2015) Induction of the Estrogenic Marker Calbindin-D9k by Octamethylcyclotetrasiloxane. *Int. J. Environ. Res. Public Health*, 12, 14610-14625
- Looney RJ, Frampton MW, Byam J, et al. (1998). Acute respiratory exposure of human volunteers to octamethylcyclotetrasiloxane (D4): absence of immunological effects. *Toxicological Sciences* 44(2):214-20.
- McMullin, T.S., Yang, Y., Campbell, J., Clewell, H.J., Plotzke, K., Andersen, M.E. (2016). Development of an integrated multi-species and multi-dose route PBPK model for volatile methyl siloxanes - D4 and D5. *Regulatory Toxicology and Pharmacology* 74:S1-S13
- McKim JM, Jr., Wilga PC, Kolesar GB, Choudhuri S, Madan A, Dochterman LW., Breen JG., Parkinson A, Mast RW, Meeks RG. (1998). Evaluation of octamethylcyclotetrasiloxane (D4) as an inducer of rat hepatic microsomal cytochrome P450, UDP-glucuronosyltransferase, and epoxide hydrolase: a 28-day inhalation study. *Toxicological Sciences* 41(1):29-41.
- McKim JM, Jr., Kolesar GB, Jean PA, Meeker LS, Wilga PC, Schoonhoven R, Swenberg JA, Goodman JI, Gallavan RH, Meeks RG (2001a). Repeated inhalation exposure to octamethylcyclotetrasiloxane produces hepatomegaly, transient hepatic hyperplasia, and sustained hypertrophy in female Fischer 344 rats in a manner similar to phenobarbital. *Toxicol Appl Pharmacol* 172(2):83-92.
- McKim JM., Jr., Wilga PC., Breslin WJ., Plotzke KP. Gallavan RH., Meeks RG. (2001b) Potential Estrogenic and Antiestrogenic Activity of the Cyclic Siloxane Octamethylcyclotetrasiloxane (D4) and the Linear Siloxane Hexamethyldisiloxane (HMDS) in Immature Rats Using the Uterotrophic Assay. *Toxicological Sciences* 63, 37- 46
- Meeks RG, Stump DG, Siddiqui WH, Holson JF, Plotzke KP, Reynolds VL. (2007). An inhalation reproductive toxicity study of octamethylcyclotetrasiloxane (D4) in female rats using multiple and single day exposure regimens *Reprod Toxicol*. 23: 192-201.
- Ördög, T, Goldsmith, JR, Chen, M-D, Connaughton, MA, Hotchkiss, J, Knobil, E (1998). On the mechanism of the positive feedback action of estradiol on luteinizing hormone secretion in the rhesus monkey. *Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism* 83(11):4047-4053
- Plotzke KP, Crofoot SD, Ferdinandi ES, et al. (2000). Disposition of radioactivity in fischer 344 rats after single and multiple inhalation exposure to [(14)C]Octamethylcyclotetrasiloxane ([(14)C]D4)). *Drug Metab Disp* 28(2):192-204.
- Plotzke KP, Jean PA, Arthurton JA, Crofoot SD (2006) In vitro evaluation of octamethylcyclotetrasiloxane (D4) and decamethylcyclopentasiloxane (D5) as progesterone receptor ligand. *Toxicol Sci* 90(1-S):397

- Quinn AL, Regan JM, Tobin JM, Marinik BJ, McMahon JM, McNett DA, Sushynski CM, Crofoot SD, Jean PA, Plotzke KP. (2007a). *In vitro* and *in vivo* evaluation of the estrogenic, androgenic, and progestagenic potential of two cyclic siloxanes. *Toxicol Sci*. 96(1):145-53.
- Quinn AL, Dalu A, Meeker LS, et al. (2007b). Effects of octamethylcyclotetrasiloxane (D4) on the luteinizing hormone (LH) surge and levels of various reproductive hormones in female Sprague-Dawley rats. *Reprod Toxicol* 23:532-40.
- Reddy MB, Andersen ME, Morrow PE, et al. (2003). Physiological modeling of inhalation kinetics of octamethylcyclotetrasiloxane in humans during rest and exercise. *Toxicol Sci* 72:3-18.
- Reddy MB, Looney RJ, Utell MJ, Plotzke KP, Andersen ME. (2007). Modeling of human dermal absorption of octamethylcyclotetrasiloxane (D(4)) and decamethylcyclopentasiloxane (D(5)). *Toxicol Sci* 99(2):422-31.
- Rościszewska, D, Dudkiewicz, J, Blecharz, A (1985). Serum luteinizing hormone (LH) level during menstrual cycle in women treated for epilepsy. *Neurologia i Neurochirurgia Polska* 19(3):205-210
- Sarangapani R, Teeguarden J, Andersen ME, Reitz RH, Plotzke KP. (2003). Route-specific differences in distribution characteristics of octamethylcyclotetrasiloxane in rats: analysis using PBPK models. *Toxicol Sci* 71:41-52.
- Scientific Committee on Consumer Safety (SCCS). (2010). Opinion on Cyclomethicone. Octamethylcyclotetrasiloxane (Cyclotetrasiloxane, D4) and Decamethylcyclopentasiloxane (Cyclopentasiloxane, D5) - The SCCS adopted this opinion at its 7th plenary meeting of 22 June 2010.
- Siddiqui WH, Stump DG, Plotzke KP, Holson JF, Meeks RG. (2007). A two-generation reproductive toxicity study of octamethylcyclotetrasiloxane (D4) in rats exposed by whole-body vapor inhalation. *Reprod Toxicol* 23:202-15.
- Utell MJ, Gelein R, Yu CP, et al. (1998). Quantitative exposure of humans to an octamethylcyclotetrasiloxane (D4) vapor. *Toxicol Sci* 44:206-13.
- U.S. EPA (2002) Hepatocellular hypertrophy. HED guidance document #G2002.01. Technical Report.
- Varaprath S, Salyers KL, Plotzke KP, Nanavati S. (1998). Extraction of octamethylcyclotetrasiloxane and its metabolites from biological matrices. *Anal Biochem* 256(1):14-22.
- Vergnes JS, Jung R, Thakur AK, Barfknecht TR, Reynolds VL. (2000). Genetic toxicity evaluation of octamethylcyclotetrasiloxane. *Environ Mol Mutagen* 36(1):13-21.
- Zareba G, Gelein R, Morrow PE, Utell MJ. (2002). Percutaneous absorption studies of octamethylcyclotetrasiloxane using the human skin/nude mouse model. *Skin Pharmacol Appl Skin Physiol* 15:184-94.
- Zhang J, Falany JL, Xie X, Falany CN. (2000). Induction of rat hepatic drug metabolizing enzymes by dimethylcyclosiloxanes. *Chem Biol Interact* 124(2):133-47.

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)