

Le directeur général

Maisons-Alfort, le 10 décembre 2012

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

**relatif à la demande d'autorisation d'emploi de la cyclohexamine,4,4'-méthylène bis  
N-(1-méthylpropyl) (N° CAS : 154279-60-4) pour la fabrication de revêtements  
organiques entrant au contact d'eau destinée à la consommation humaine**

---

*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'Agence nationale de sécurité sanitaire de l'alimentation, de l'environnement et du travail (Anses) a été saisie le 9 mai 2012 par la Direction générale de la santé (DGS) pour la réalisation de l'expertise suivante : demande d'autorisation d'emploi de la cyclohexamine,4,4'-méthylène bis N-(1-méthylpropyl) (N° CAS : 154279-60-4) pour la fabrication de revêtements organiques entrant au contact d'eau destinée à la consommation humaine (EDCH).

## 1. CONTEXTE ET OBJET DE LA SAISINE

La mise sur le marché des matériaux et objets destinés à entrer en contact avec de l'EDCH d'une part, et leur utilisation dans les installations de production, de distribution et de conditionnement d'eau d'autre part, sont soumises aux dispositions réglementaires des articles R. 1321-48 et 49 du code de la santé publique (CSP).

L'arrêté du 29 mai 1997 modifié précise les conditions auxquelles doivent répondre les matériaux et objets utilisés dans les installations fixes de production, de traitement et de distribution d'EDCH. Il indique notamment que les matériaux organiques peuvent être utilisés au contact d'EDCH sous réserve qu'ils soient fabriqués à partir des constituants chimiques autorisés au titre de la réglementation relative aux matériaux et objets pouvant être placés au contact des denrées alimentaires ainsi que ceux listés en annexe III de l'arrêté.

Le chapitre C du guide pratique de la Direction générale de la santé (DGS) de mars 1999 pour la constitution des dossiers relatifs à la conformité sanitaire des matériaux placés en contact avec les EDCH précise les éléments constitutifs du dossier de demande d'ajout d'une nouvelle substance à l'une des listes positives annexées à l'arrêté du 29 mai 1997 modifié.

Le rapport de décembre 2011 « *Positive Lists for Organic Materials* » du groupe de 4 États membres de l'Union européenne dit « 4MS », précise les informations nécessaires et décrit la procédure d'évaluation pour l'ajout d'une nouvelle substance autorisée dans la liste positive commune. La procédure est basée sur la « *Note for Guidance for Food Contact Materials* » de l'EFSA (European Food Safety Authority) (EFSA, 2008).

## 2. ORGANISATION DE L'EXPERTISE

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

L'expertise collective a été réalisée par le groupe de travail (GT) « Évaluation de l'innocuité sanitaire des matériaux et objets utilisés dans les installations fixes de production, de traitement et de distribution d'EDCH (MCDE) », sur la base d'un rapport sur le dossier technique du pétitionnaire, préparé par un expert de ce même GT et deux experts du CES « Évaluation des risques chimiques dans les aliments (ERCA) » pour la partie toxicologique du dossier.

L'analyse conduite et les conclusions des travaux du GT « MCDE » ont été présentées au GT « Évaluation des substances et procédés soumis à autorisation en alimentation humaine (ESPA) » et adoptées par le CES « Eaux » le 6 novembre 2012.

## 3. ANALYSE ET CONCLUSIONS DU CES « EAUX »

Le dossier technique du pétitionnaire comprend toutes les informations nécessaires à l'évaluation (cf. le paragraphe 2.4 de l'approche commune du groupe des 4MS, la « Note for guidance » de l'EFSA et le chapitre C du guide pratique de la DGS de mars 1999).

### 3.1. Analyse des documents reçus

#### 3.1.1. Identité

Le tableau I résume les principales données relatives à l'identité de la substance qui est un mélange de plusieurs isomères.

Tableau I : principales données relatives à l'identité de la substance

Dénomination	Cyclohexamine,4,4'-méthylène bis N-(1-méthylpropyl)
Numéro CAS	154279-60-4
Formule brute	C <sub>21</sub> H <sub>42</sub> N <sub>2</sub>
Formule développée	
Masse moléculaire	322,57 g/mol
Pureté	97,4 % à 99,1 %

### 3.1.2. Propriétés physiques et chimiques

Cette diamine réagit avec les di-isocyanates aliphatiques pour former des liaisons de type polyurée et ses propriétés physico-chimiques sont présentées dans le tableau II.

Tableau II : principales propriétés physico-chimiques

Point de fusion	-21°C
Point d'ébullition	355°C
Point éclair	176°C
Coefficient de partage n-octanol/eau	1,31 à 23,3°C et à pH 6,8
Solubilité dans l'eau	131 µg/mL à 23°C
Densité	0,9 ( $\pm 0,02$ ) g/cm <sup>3</sup> à 20°C
Pression de vapeur	< 0,1 kPa à 20°C
Tension de surface	31,91 mN/m à 24°C

### 3.1.3. Applications prévues

La substance entre dans la formulation d'un revêtement bi-composant de type polyurée destiné à éviter la corrosion (épaisseur de 1 à 2 mm) ou améliorer les propriétés structurales (épaisseur de 3,0 à 8,5 mm) des canalisations de distribution d'EDCH froide de diamètres supérieurs à 63 mm.

La base constituée principalement de di-isocyanates aliphatiques, et la préparation contenant la diamine (appelée « activateur »), sont chauffées séparément puis mélangées à part égale lors de la pulvérisation rotative à l'intérieur des canalisations. L'épaisseur du revêtement est déterminée par les vitesses de rotation et de progression de la tête de pulvérisation ainsi que le débit de la pompe d'alimentation en base et en activateur. Le temps de polymérisation est d'une heure.

### 3.1.4. Autorisations d'usage

La cyclohexamine,4,4'-méthylène bis N-(1-méthylpropyl) est autorisée aux Pays-Bas avec une concentration maximale tolérable au robinet (CMT<sub>robinet</sub>) de 9 µg/L. Au regard de la procédure d'évaluation d'une nouvelle substance retenue par les 4MS, une autorisation avec une CMT<sub>robinet</sub> de 9 µg/L nécessite la fourniture, en sus des essais de génotoxicité, d'une étude de toxicité subchronique par voie orale (90 jours) qui ne figure pas au dossier déposé.

Un revêtement contenant ce composant est autorisé pour un contact avec l'EDCH dans les pays suivants : Royaume-Uni, Pays-Bas pour une utilisation à une température maximale de 35°C et dans des canalisations de diamètre compris entre 100 et 610 mm, Belgique, Italie, États-Unis pour une utilisation à une température maximale de 30°C et dans des canalisations de diamètre ≥ 4 pouces (101,6 mm), Malaisie, Taiwan et Japon.

### 3.1.5. Données sur la migration

#### Selon la norme NSF61 (USA)

Des essais de migration sur le revêtement contenant la cyclohexamine,4,4'-méthylène bis N-(1-méthylpropyl) ont été réalisés, selon la norme américaine « NSF/ANSI Standard 61 ». Aucun signal correspondant à la cyclohexamine,4,4'-méthylène bis N-(1-méthylpropyl) n'a

été décelé dans les solutions de migration par analyses chromatographiques gazeuse ou liquide en couplages avec la spectrométrie de masse.

Selon la norme XP P41-250-2 par le laboratoire interne

Des essais de migration ont été réalisés par le laboratoire interne du pétitionnaire selon la norme XP P41-250-2 avec dosage dans l'eau de la cyclohexamine,4,4'-méthylène bis N-(1-méthylpropyl) par chromatographie en phase liquide couplée à la spectrométrie de masse en tandem. Après 24 h de contact, pour un rapport Surface/Volume (S/V) de 60 cm<sup>2</sup>/L, la migration est inférieure à 1 µg/L pour les 4 échantillons testés. Après 2 x 24 h, la migration est inférieure à 1 µg/L pour un échantillon et de 1,18 µg/L pour un autre échantillon.

Selon les normes XP P41-250-1, 2 et 3 par un laboratoire habilité (Arrêté du 18 août 2009 relatif aux conditions d'habilitations des laboratoires en application de l'article R\*. 1321-52 du code de la santé publique)

Les essais nécessaires à l'obtention d'une attestation de conformité sanitaire (ACS) ont été réalisés avec un rapport S/V de 60 cm<sup>2</sup>/L. Les résultats sont conformes aux critères d'acceptabilités fixés par la réglementation française. Ainsi, si la cyclohexamine,4,4'-méthylène bis N-(1-méthylpropyl) était autorisée en France, le revêtement testé pourrait obtenir une ACS.

Conclusion

Les essais de migration spécifique de la cyclohexamine,4,4'-méthylène bis N-(1-méthylpropyl), réalisés selon la norme nord américaine « NSF/ANSI Standard 61 » n'ont pas mis en évidence de migration et ceux réalisés selon la norme française XP P41-250-2, montrent une migration inférieure à 2,5 µg/L. Ainsi, au regard du niveau d'exposition, seules des études de génotoxicité sont nécessaires pour son évaluation (4MS, 2011).

Toutefois, ces derniers n'ont pas été réalisés selon la norme NF EN 12873-2 retenue pour inscrire une nouvelle substance dans la liste positive commune aux « 4MS ».

### 3.1.6. Données sur la teneur résiduelle dans le matériau au contact avec l'eau

La teneur réelle résiduelle dans le matériau n'a pas été déterminée analytiquement. La formulation du revêtement prévoit une surcharge en di-isocyanates dans le but de réduire au maximum la teneur en cyclohexamine,4,4'-méthylène bis N-(1-méthylpropyl) dans le produit fini.

### 3.1.7. Données toxicologiques

Génotoxicité

- Mutation génique chez les bactéries (Test d'Ames) (Études datant de 1993 et 2002)

Sur la base de 2 études selon la ligne directrice 471 de l'OCDE, et malgré les déviations aux bonnes pratiques de laboratoires (BPL) et les limitations d'ordre expérimental, les résultats indiquent une absence de potentiel mutagène de la substance sur ce système bactérien.

- Essai *in vitro* de mutation génique de cellules de mammifères (Étude datant de 2011)

Malgré les déviations aux BPL, le test de mutations géniques sur cellules de lymphome de souris (cellules L5178Y) suit la majeure partie des recommandations de la ligne directrice

476 de l'OCDE et des recommandations bibliographiques récentes (Moore et al., 2006, 2007). Il indique une absence de potentiel mutagène de la substance sur ce système cellulaire.

- Essai *in vitro* d'aberration chromosomique sur des cellules de mammifères (Étude datant de 2002)

Malgré les déviations aux BPL, le test d'aberration chromosomique *in vitro* sur cellules CHL suit la majeure partie des recommandations de la ligne directrice 473 de l'OCDE. Cette étude démontre clairement le potentiel génotoxique *in vitro* de la substance aussi bien en absence qu'en présence d'activation métabolique sur ce système cellulaire avec une induction d'aberrations chromosomiques de type structurel (action de type clastogène) et numérique (action de type aneugène). Il convient toutefois de rappeler que le choix de la lignée cellulaire est critiquable compte tenu de son origine murine et de son instabilité génétique qui pourraient être à l'origine de résultats faussement positifs (Honma et Hayashi, 2011). Ces résultats devraient être confirmés en utilisant des cellules génétiquement stables comme, par exemple, des lymphocytes humains.

- Autres informations (Étude datant de 2011)

Une étude de génotoxicité *in vivo* de détection de micronoyaux menée sur cellules de moelle osseuse de souris selon la ligne directrice 474 de l'OCDE, conclut que la substance est non génotoxique. Cependant, la pertinence de ce résultat ne peut être garantie car l'absence d'inhibition de l'érythropoïèse (pas de diminution du rapport PCE<sup>1</sup>/NCE<sup>2</sup>) et de détermination des concentrations plasmatiques ne permet pas de garantir que l'organe cible ait été effectivement exposé. De plus, ce test réglementaire n'est pas considéré comme très sensible (Kirkland et Speit, 2008).

#### Toxicité générale

- Étude combinée de toxicité à doses répétées à 28 jours et de dépistage de la toxicité sur la reproduction et le développement (Étude datant de 2011)

La cyclohexamine,4,4'-méthylène bis N-(1-méthylpropyl) est très irritante et produit une toxicité urothéliale quand elle est administrée par gavage oral pendant 28 jours chez des rats. Une réponse adaptative à cette irritation est suggérée. Les femelles, ayant subi une durée de traitement supérieure, ne présentent pas d'hyperplasie urothéliale à des degrés plus sévères que les mâles.

Le niveau d'effet indésirable non observé (NOAEL) parental est établi à 1 mg/kg p.c./j pour les mâles et à 3 mg/kg p.c./j pour les femelles, à partir des résultats de l'étude de toxicité orale de 28 jours.

Aucun effet toxique sur la reproduction et le développement n'a été observé. Cependant, l'affirmation du pétitionnaire « *Cette étude indique que la substance ne présente pas de risque pour la reproduction : le niveau d'effet indésirable non observé NOAEL pour la reproduction et le développement est établi à plus de 10 mg/kg p.c./j* » ne doit pas être interprétée de façon extensive au regard des considérations préliminaires de la ligne directrice 422 de l'OCDE<sup>3</sup>.

<sup>1</sup> PCE : érythrocytes polychromatiques.

<sup>2</sup> NCE : érythrocytes monochromatiques.

<sup>3</sup> *L'étude comprend en outre un test de dépistage de la toxicité pour la reproduction et le développement et elle peut donc être utilisée pour obtenir des informations initiales sur les effets possibles affectant les capacités reproductrices du mâle et de la femelle telles que la fonction gonadique, le comportement lors de l'accouplement, la conception, le développement de l'embryon et la parturition, soit à un stade précoce de l'évaluation des propriétés toxicologiques des substances chimiques, soit sur des substances chimiques*

- Autres informations

La dose létale 50% ( $DL_{50}$ ) après exposition par voie cutanée est établie à 1600-2000 mg/kg sur la base d'une étude de toxicité aiguë chez le rat réalisée en 2005.

La dose létale 50% ( $DL_{50}$ ) après exposition par voie orale est établie à 227 mg/kg sur la base d'une étude de toxicité aiguë par voie orale chez le rat réalisée en 2001.

La cyclohexamine,4,4'-méthylène bis N-(1-méthylpropyl) est corrosive pour la peau du lapin selon les résultats d'un essai réalisé en 1993 et est réglementairement classée comme sensibilisant cutané sur la base d'un test LLNA (Local Lymph Node Assay) datant de 2005 qui n'est pas joint au dossier mais mentionné dans le rapport de sécurité chimique.

#### Conclusion

Les études suivent la majeure partie des recommandations des lignes directrices de l'OCDE correspondantes. Néanmoins, quelle que soit l'étude, aucun contrôle n'est fourni concernant les concentrations dans les formulations de traitement avec les solvants/excipients utilisés ce qui, au-delà de correspondre à une déviation aux BPL, ne permet pas de s'assurer de la stabilité du produit dans les conditions de traitement.

Au regard de l'ensemble de ces éléments, il n'est pas possible de conclure quant à l'absence de potentiel génotoxique de la cyclohexamine,4,4'-méthylène bis N-(1-méthylpropyl). Par conséquence, sans l'apport de données complémentaires précises, le risque génotoxique pour l'Homme ne peut pas, à ce stade, être exclu.

### 3.2. Conclusions

Au vu du dossier soumis par le pétitionnaire, le CES « Eaux » :

- 1) émet un sursis à statuer à la demande d'autorisation d'emploi de la cyclohexamine,4,4'-méthylène bis N-(méthylpropyl) (N° CAS : 154279-60-4) pour la fabrication de revêtements organiques entrant au contact d'eau destinée à la consommation humaine ;
- 2) demande de réitérer le test d'aberrations chromosomiques *in vitro* dans une étude selon les bonnes pratiques de laboratoire (BPL) utilisant des cellules d'origine humaine et stables sur le plan génétique (lymphocytes humains par exemple) (OCDE 473).

Si les résultats obtenus au cours de cette nouvelle étude sur ce nouveau type cellulaire sont négatifs, l'hypothèse d'un résultat faussement positif obtenu sur la lignée murine CHL, déficiente p53 et génétiquement instable pourra être avancée.

---

préoccupantes. Cet essai ne fournit pas une information exhaustive sur tous les aspects de la reproduction et du développement. En particulier, il n'offre que des moyens limités pour déceler des manifestations postnatales d'une exposition prénatale ou des effets imputables à une exposition postnatale. En raison (entre autres) du choix des effets observés retenu et de la brièveté de l'étude, cette méthode ne fournit pas toute l'évidence nécessaire à l'étayage d'une conclusion définitive quant à une absence d'effets toxiques pour la reproduction et le développement. Des résultats négatifs, même s'ils ne garantissent pas une sécurité totale à l'égard de la reproduction et du développement, peuvent néanmoins constituer des éléments rassurants si les niveaux réels d'exposition sont manifestement inférieurs à la concentration sans effets nocifs observés (CSENO).

En revanche, en cas de résultats positifs ou équivoques, tant sur la fréquence d'aberrations structurelles que numériques, une investigation complémentaire *in vivo* sera nécessaire. Étant donnés les mécanismes d'action génotoxique possibles, le(s) test(s) effectué(s) devront permettre de prendre en compte des événements génotoxiques de type clastogène et/ou aneugène sur un ou plusieurs organes cibles. Les essais suivants pourront être réalisés :

- un test des comètes dans sa version alcaline à même de mettre en évidence divers types de lésions de l'ADN (cassures simple et double-brin, sites alcali-labiles, sites incomplets de réparation de l'ADN...). Des effets ayant été démontrés aussi bien en absence qu'en présence d'activation métabolique, l'étude devra porter sur un organe systémique capable de métabolisation (le foie par exemple), mais également sur un organe local d'intérêt en fonction de l'exposition par voie orale attendue chez l'Homme, par exemple un organe du tractus gastro-intestinal (estomac et/ou côlon et/ou duodénum). Le test devra être réalisé en prenant en compte les récentes recommandations bibliographiques qui définissent les conditions optimales de sa mise en œuvre (Tice *et al.*, 2000 ; Hartmann *et al.*, 2003, 2004 ; Burlinson, 2007).
- le test des comètes n'étant pas le mieux approprié pour la détection des composés aneugènes, il serait nécessaire de le coupler au test micronoyaux comme cela a été proposé dans plusieurs publications (Pfuhler *et al.*, 2007 ; Vasquez, 2010) sur un organe d'intérêt (OCDE 474). Étant donné le type d'exposition attendue chez l'Homme, la réalisation du test sur le côlon semble pertinente.

Des résultats négatifs pour ces deux essais permettraient de conclure que le composé d'essai n'est pas génotoxique *in vivo*.

Pour tous ces essais, le contrôle des concentrations dans les formulations de traitement devrait être effectué.

Si des essais de migration, réalisés selon la norme NF EN 12873-2 (4MS, Décembre 2011), montraient une migration dans l'eau supérieure à 2,5 µg/L, des données toxicologiques complémentaires seraient nécessaires après 90 jours d'exposition.

#### **4. CONCLUSIONS ET RECOMMANDATIONS DE L'AGENCE**

L'Agence nationale de sécurité sanitaire de l'alimentation, de l'environnement et du travail adopte la conclusion et les recommandations du CES « Eaux ».

**Le directeur général**

Marc Mortureux

## MOTS-CLES

Eau destinée à l'alimentation humaine, matériaux au contact de l'eau, matériaux organiques, listes positives, autorisation d'une substance.

## BIBLIOGRAPHIE

### 4.1. Publications

4MS (Décembre 2011). Positive Lists for Organic Materials – 4MS Common Approach – Part A : Compilation and management of a suite of Positive Lists (PLs) for organic materials – Part B : Assessment of products for compliance with Positive List requirements (Conversion Factors – CFs).

[www.umweltbundesamt.de/wasser-e/themen/downloads/trinkwasser/4ms\\_positive\\_list.pdf](http://www.umweltbundesamt.de/wasser-e/themen/downloads/trinkwasser/4ms_positive_list.pdf).

Burlinson B., Tice R.R., Speit G., Agurell E. et al. (2007). Fourth International Workgroup on Genotoxicity testing: results of the in vivo comet assay workgroup. *Mutat. Res.*, 627: 31-5.

DGS (Mars 1999). Guide pratique pour la constitution des dossiers relatifs à la conformité sanitaire des matériaux placés en contact avec les eaux d'alimentation.

[www.sante.gouv.fr/rese/edch/reg/ti-a020.htm](http://www.sante.gouv.fr/rese/edch/reg/ti-a020.htm)

EFSA (30 July 2008). Note for guidance for petitioners presenting an application for the safety assessment of a substance to be used in food contact materials prior to its authorisation. [www.efsa.europa.eu/en/scdocs/doc/21r.pdf](http://www.efsa.europa.eu/en/scdocs/doc/21r.pdf).

Hartmann A., Agurell E., Beevers C., Brendler-Schwaab S., Burlinson B., Clay P., Collins A., Smith A., Speit G., Thybaud V., Tice R.R. (2003). 4<sup>th</sup> International Comet Assay Workshop. Recommendations for conducting the in vivo alkaline Comet assay. *Mutagenesis*, 18, 1:45-51.

Hartmann A., Schumacher M., Plappert-Helbig U., Lowe P., Suter W., Mueller L. (2004). Use of the alkaline in vivo Comet assay for mechanistic genotoxicity investigations. *Mutagenesis*, 19, 1:51-9.

Honma M., Hayashi M. (2011). Comparison of in vitro micronucleus and gene mutation assay results for p53-competent versus p53-deficient human lymphoblastoid cells. *Environ. Mol. Mutagen.*, 52, 5:373-84.

Kirkland D., Speit G. (2008). Evaluation of the ability of a battery of three in vitro genotoxicity tests to discriminate rodent carcinogens and non-carcinogens III. Appropriate follow-up testing in vivo. *Mutat. Res.*, 31, 654, 2:114-32.

Moore M.M., Honma M., Clements J., Bolcsfoldi G., Burlinson B., Cifone M., Clarke J., Delongchamp R., Durward R., Fellows M., Gollapudi B., Hou S., Jenkinson P., Lloyd M., Majeska J., Myhr B., O'Donovan M., Omori T., Riach C., San R., Stankowski L.F.Jr., Thakur A.K., Van Goethem F., Wakuri S., Yoshimura I. (2006). Mouse lymphoma thymidine kinase gene mutation assay: Follow-up Meeting of the International Workshop on Genotoxicity Testing – Aberdeen, Scotland, 2003 – Assay acceptance criteria, positive controls, and data evaluation. *Environmental and Molecular Mutagenesis*, 47, 1: 1-5.

Moore M.M., Honma M., Clements J., Bolcsfoldi G., Burlinson B., Cifone M., Clarke J., Clay P., Doppalapudi R., Fellows M., Gollapudi B., Hou S., Jenkinson P., Muster W., Pant K., Kidd D.A., Lorge E., Lloyd M., Myrh B., O'Donovan M., Riach C., Stankowski L.F.Jr., Thakur A.K., Van Goethem F. (2007). Mouse lymphoma thymidine kinase gene mutation assay: Follow-up Meeting of the International Workshop on Genotoxicity Testing - San Francisco, 2005 - Recommendations for 24-h treatment. *Mutation Research*, 627, 36–40

Pfuhler S., Albertini S., Fautz R., Herbold B., Madle S., Utesch D., Poth A. (2007). Gesellschaft für Umwelt-Mutation Forschung. Genetic toxicity assessment: employing the best science for human safety evaluation part IV: Recommendation of a working group of the Gesellschaft für Umwelt-Mutationsforschung (GUM) for a simple and straightforward approach to genotoxicity testing. *Toxicol. Sci.*, 97, 2: 237-40.

Tice R.R., Agurell E., Anderson D., Burlinson B., Hartmann A., Kobayashi H., Miyamae Y., Rojas E., Ryu J.C., Sasaki Y.F. (2000). Single cell gel/comet assay: guidelines for in vitro and in vivo genetic toxicology testing. *Environ. Mol. Mutagen.*, 35, 3:206-21.

Vasquez M.Z. (2010). Combining the in vivo comet and micronucleus assays: a practical approach to genotoxicity testing and data interpretation. *Mutagen.*, 25: 187-199.

#### 4.2. Normes

EPA 625 : Methods for organic chemical analysis of municipal and industrial wastewater – Base/Neutrals and acids - Semivolatile organic compounds by isotope dilution GC/MS.

NF EN 12873-2 : Influence sur l'eau des matériaux en contact avec l'eau destinée à la consommation humaine – Influence de la migration – Partie 2 : Méthode d'essai des matériaux appliqués sur site excepté les matériaux métalliques et ceux à base de ciment.

NSF/ANSI Standard 61 : NSF International Standard / American National Standard / Drinking Water System Components – Health Effects.

XP P 41-250-2 : Effet des matériaux sur la qualité des eaux destinées à la consommation humaine – Matériaux organiques – Partie 2 : Méthode de mesure des micropolluants minéraux et organiques.

#### 4.3. Législation et réglementation

Arrêté du 29 mai 1997 relatif aux matériaux et objets utilisés dans les installations fixes de production, de traitement et de distribution d'eau destinée à la consommation humaine modifié par les arrêtés du 24 juin 1998, 13 janvier 2000, 22 août 2002 et 16 septembre 2004 (publiés aux Journaux Officiels des 1<sup>er</sup> juin 1997, 25 août 1998, 21 janvier 2000, 3 septembre 2002 et 23 octobre 2004).

Arrêté du 18 août 2009 relatif aux conditions d'habilitation des laboratoires en application de l'article R\*. 1321-52 du code de la santé publique.