

Comité d'experts spécialisé CES Evaluation des risques physico-chimiques dans les aliments - CES ERCA 2018-2022

**Procès-verbal de la réunion
du 19 mai 2021**

*Considérant le décret n° 2012-745 du 9 mai 2012 relatif à la déclaration publique d'intérêts et à la transparence en matière de santé publique et de sécurité sanitaire, ce procès-verbal retranscrit de manière synthétique les débats d'un collectif d'experts qui conduisent à l'adoption de conclusions. Ces conclusions fondent un avis de l'Anses sur une question de santé publique et de sécurité sanitaire, préalablement à une décision administrative.
Les avis de l'Anses sont publiés sur son site internet (www.anses.fr).*

Etaient présents le 19 mai 2021 - Matin :

Monsieur Bruno LE BIZEC (président de séance)

Monsieur Claude ATGIE, Monsieur Pierre-Marie BADOT, Madame Martine CLAUW (rapporteur), Madame Marie-Yasmine DECHRAOUI BOTTEIN, Monsieur Nicolas DELCOURT, Madame Christine DEMEILLIERS, Monsieur Erwan ENGEL, Monsieur Jérôme GAY-QUEHEILLARD (rapporteur), Monsieur Petru JITARU, Madame Emilie LANCE, Madame Caroline LANIER, Monsieur Ludovic LE HEGARAT, Monsieur Nicolas LOISEAU, Monsieur David MAKOWSKI, Monsieur César MATTEI, Monsieur Fabrice NESSLANY, Monsieur Alain-Claude ROUDOT, Monsieur Yann SIVRY (rapporteur), Madame Karine TACK, Madame Paule VASSEUR (rapporteur).

La coordination du CES ERCA

Etaient absents ou excusés :

Docteur Sonia KHIER, Madame Raphaële LE GARREC, Monsieur Eric MARCHIONI, Monsieur Jean-François MASFARAUD.

Etaient présents le 19 mai 2021 - Après-midi :

Monsieur Bruno LE BIZEC (président de séance)

Monsieur Claude ATGIE, Monsieur Pierre-Marie BADOT, Madame Martine CLAUW (rapporteur), Madame Marie-Yasmine DECHRAOUI BOTTEIN, Monsieur Nicolas DELCOURT, Madame Christine DEMEILLIERS, Monsieur Erwan ENGEL, Monsieur Jérôme GAY-QUEHEILLARD (rapporteur), Monsieur Petru JITARU, Madame Emilie LANCE, Madame Caroline LANIER, Monsieur Ludovic LE HEGARAT, Monsieur Nicolas LOISEAU, Monsieur David MAKOWSKI, Monsieur César MATTEI, Monsieur Fabrice NESSLANY, Monsieur Alain-Claude ROUDOT, Monsieur Yann SIVRY (rapporteur), Madame Karine TACK, Madame Paule VASSEUR (rapporteur).

La coordination du CES ERCA

Etaient absents ou excusés :

Docteur Sonia KHIER, Madame Raphaële LE GARREC, Monsieur Eric MARCHIONI, Monsieur Jean-François MASFARAUD.

Présidence

Monsieur Bruno LE BIZEC assure la présidence de la séance pour la journée.

1. ORDRE DU JOUR

L'expertise ayant fait l'objet d'une finalisation et d'une adoption des conclusions est la suivante : nanomatériaux dans les produits destinés à l'alimentation (saisine 2016-SA-0226).

2. GESTION DES RISQUES DE CONFLIT D'INTERETS

Le président, après avoir vérifié en début de réunion que les experts n'ont pas de nouveaux liens d'intérêts à déclarer, précise que l'analyse des liens déclarés n'a pas mis en évidence de risque de conflit au regard des points de l'ordre du jour mentionné ci-dessus.

3. SYNTHÈSE DES DÉBATS, DÉTAIL ET EXPLICATION DES VOTES, Y COMPRIS LES POSITIONS DIVERGENTES

3.1. Nanomatériaux dans les produits destinés à l'alimentation (saisine 2016-SA-0226)

Le président vérifie que le quorum est atteint avec 21 experts sur 25, ne présentant pas de risque de conflit d'intérêts.

Les discussions relatives à la validation de cette saisine se sont déroulées au cours des séances de CES ERCA du 15 avril et du 19 mai 2021.

Séance du CES ERCA du 15 avril 2021

La coordination rappelle le calendrier en lien avec cette expertise :

- 1^{er} livrable : l'étude de la filière alimentaire utilisant des nanomatériaux (NM) a été validée en février 2020 ;
- 2^{ème} livrable : présentation de la méthodologie d'évaluation du risque sanitaire (ERS) nanospécifique, à valider au CES ERCA de mai 2021 ;
- 3^{ème} livrable : mise en application de la méthodologie avec l'exemple du dioxyde de titane (TiO₂).

L'objectif est la validation du deuxième livrable par le CES ERCA. Celle-ci s'effectue en deux étapes:

- CES ERCA du 15 avril 2021 : première étape de validation du deuxième livrable sur les parties relatives aux approches analytique et aux calculs d'exposition ;
- CES ERCA du 19 mai 2021 : deuxième étape de validation du deuxième livrable sur la partie relative à l'identification et la caractérisation du danger.

Concernant la première étape de validation du deuxième livrable, Yann SIVRY et Jérôme GAY-QUEHEILLARD ont été nommés experts relecteurs du document.

Les deux experts relecteurs sont invités en séance à faire leur retour. Ils remarquent que l'objectif du document n'est pas un guide clé en main. Ils notent que le guide n'est pas directif sur la méthode, ce qui peut représenter des difficultés sur sa mise en application. Les relecteurs auraient souhaité que le GT affirme davantage ses choix par rapport à la méthode proposée par l'EFSA. Au regard de la méthodologie du GT nano et alimentation, les relecteurs estiment que les recommandations ne seraient pas applicables quels que soient les NM et la matrice. Ils s'interrogent sur la faisabilité d'appliquer ce guide.

La coordination fait une présentation sous forme d'interaction avec le CES afin de répondre aux interrogations et commentaires des relecteurs.

Concernant la première étape de la méthodologie, il est noté un manque de précision sur le type de microscopie électronique (balayage ou transmission) pouvant être appliquée pour l'identification des nanomatériaux. La coordination précise que les deux techniques sont adaptées à la mesure de la taille des NM.

Pour la deuxième étape, les relecteurs s'interrogent sur la quantité résiduelle de NM après dissolution dans les conditions du tractus gastro-intestinal. La coordination précise que l'EFSA considère que si moins de 12% (seuil) de la masse du matériau de départ est présente sous forme nanoparticulaire après 30 minutes d'incubation, la mise en place d'une ERS nanospécifique n'est pas nécessaire. Ce seuil est déterminé à partir de différentes hypothèses notamment en fixant une demi-vie du NM à 10 minutes. Cette hypothèse est jugée inadaptée par le GT nano et alimentation qui ne retient pas ce seuil. Le CES ERCA est en accord avec ce choix. Suite à des questions des relecteurs, la coordination précise que deux stratégies analytiques sont proposées et que le choix des protocoles revient aux opérateurs. Les relecteurs estiment que les conditions expérimentales du simulant alimentaires pourraient maximiser les phénomènes de dissolution par rapport aux conditions réelles dans les aliments. Le CES recommande d'apporter ces précisions dans le document.

Pour la troisième étape en lien avec les calculs d'exposition, les experts suggèrent d'apporter dans le document des explications relatives aux calculs de la fraction massique des particules appartenant à la nano-échelle. Des questions en lien avec les approches analytiques proposées pour la détermination de la fraction massique (techniques de mesures, paramètres physico-chimiques) sont posées. Des précisions relatives à la technique de préparation des échantillons avant observation en microscopie électronique ont été apportées (méthode d'extraction, approche alternative d'enduction centrifuge - communément appelée *spin coating* - pour favoriser la répartition des particules primaires sur des surfaces planes) et seront intégrées à l'avis.

Le président invite les experts à s'exprimer en séance sur la première partie de l'avis (approches analytiques et calculs des expositions). Le CES ERCA valide cette première partie à l'unanimité.

Séance du CES ERCA du 19 mai 2021

L'objectif de cette séance est la validation de la partie méthodologie en lien avec les études de toxicité ainsi que les conclusions et recommandations de l'avis.

Concernant la deuxième étape de validation du deuxième livrable, Martine CLAW et Paule VASSEUR ont été nommées relectrices du document.

En parallèle, le CES ERCA était invité à consulter le document pour préparer les échanges de la séance.

En réponse aux relecteurs ayant souligné une forme de disparité sur les niveaux de précision tout au long du document, il est précisé que le GT a choisi de détailler, dès que cela était possible et utile (quantité et qualité des informations à disposition) les étapes de la méthodologie, ce qui explique le fait que certaines parties soient déséquilibrées. Certains experts du CES estiment que l'avis Anses doit présenter le même degré de détail que l'avis EFSA.

La coordination rappelle que les nanomatériaux constituent un mélange de particules micro et nanométriques et que le guide proposé se focalise sur la fraction nanométrique des nanomatériaux manufacturés utilisés en tant qu'additifs alimentaires.

Les données toxicologiques sont récoltées à partir d'études menées avec la fraction nanométrique ou le nanomatériau dans son ensemble (ex : nanoTiO₂ ou E171). Il s'agit des données toxicocinétiques, toxicologiques et épidémiologiques. Quatre éléments essentiels devraient être pris en compte avant la réalisation de ces études :

- (1) la méthode de préparation des nanomatériaux : protocole de dispersion,
- (2) la justification du choix des conditions expérimentales des essais toxicologiques (doses et dosimétrie),
- (3) la justification du choix du système d'essai (modèle cellulaire ou animal),
- (4) les interférences avec les paramètres mesurés.

Le CES indique que les durées de traitement mentionnées pour certains tests sont sources de confusion. Il est proposé d'apporter des modifications dans le texte de l'avis. Le CES s'interroge également sur les niveaux de dose pouvant être utilisés pour les tests *in vitro* et *in vivo*. Il est précisé que le niveau de dose maximal testé est conditionné par la qualité et la stabilité de la dispersion des nanomatériaux. De plus il faut s'assurer que les doses ne soient pas trop élevées afin de limiter les effets non intrinsèques.

Concernant la conduite des tests toxicologiques, le CES demande d'apporter des précisions concernant l'ordre dans lequel les tests toxicologiques doivent être mis en place. La coordination précise que les tests toxicocinétiques vont permettre par exemple de guider le choix des lignées cellulaires pour les tests *in vitro* et indique que des précisions seront apportées dans le texte. Pour les tests de toxicocinétique, Il est recommandé d'utiliser des doses élevées. La mention « relativement élevée » sera modifiée dans l'avis.

Des précisions sont apportées concernant les lignées cellulaires pouvant être utilisées dans les tests *in vitro*.

La coordination indique que les études sub-chroniques de 90 jours représentent la pierre angulaire des études de toxicité pour établir un repère toxicologique (NOAEL ou BMDL). La nécessité de mettre en place des études complémentaires ou non requiert l'analyse de paramètres absents des études sub-chroniques tels que l'étude du potentiel inflammatoire et la recherche de biomarqueurs précancéreux au niveau du tractus gastro-intestinal.

Concernant l'évaluation de la génotoxicité, il est précisé qu'à minima deux tests *in vitro* sont à réaliser: un test de mutation génique sur cellules de mammifères et un test d'aberrations chromosomiques. Si les résultats des deux tests sont clairement négatifs, des tests

complémentaires de génotoxicité ne sont pas demandés. Si des résultats positifs sont obtenus, des essais complémentaires seront demandés.

Suite aux questions du CES relatives à l'approche par regroupement et lecture croisée, la coordination rappelle que l'objectif est de déterminer la toxicité (ex : génotoxicité) d'un nanomatériau cible à partir de données existantes pour des nanomatériaux sources (analogues). Cette approche séquentielle du regroupement et lecture croisée est explicitée à travers un exemple (nanoTiO₂). La coordination présente les conditions de mise en place des études complémentaires pour les études en lien avec la génotoxicité, la toxicocinétique, la neurotoxicité, l'immunotoxicité, la cancérogenèse, la toxicité pour la reproduction et le développement. Concernant la toxicocinétique combinée à une étude de 90 jours, il est précisé qu'il faudra utiliser des groupes d'animaux satellites pour des raisons de logistique et de stress des animaux.

Concernant les biomarqueurs précancéreux, ces derniers tiennent une place importante dans la méthodologie proposée par le GT par rapport à celle de l'EFSA. Le GT indique que trois biomarqueurs ont été identifiés et souligne que la recherche systématique de deux biomarqueurs est demandée pour confirmer l'apparition des lésions prénéoplasiques.

Les conclusions sont résumées sous la forme d'un tableau comparatif avec le guide de l'EFSA de 2018 et met en lumière les différences méthodologiques proposées par le GT.

Concernant la définition des nanomatériaux, le CES indique que le fait de ne pas considérer les mêmes définitions n'a pas d'incidence opérationnelle sur le champ d'investigation des guides de l'EFSA et de l'Anses. Il est précisé que le guide de l'EFSA considère l'ensemble des définitions existantes, là où le GT a voulu être plus formel dans sa définition (qualification) afin de l'adapter au contexte de la saisine.

Concernant la dissolution des nanomatériaux dans les conditions du tractus gastro-intestinal, il est demandé si des tests *in vitro* sur des barrières intestinales reconstituées pourraient être effectués. La coordination explique que le GT l'a envisagé mais que les données étaient manquantes et que les tests *in vitro* n'étaient pas suffisamment robustes jusqu'alors.

Des modifications de fond et de forme sont apportées concernant les conclusions (Identification et quantification des nanomatériaux dans l'alimentation) et les recommandations (notamment sur le microbiote et l'épidémiologie).

Le président propose une étape formelle de validation avec délibération et vote. Il rappelle que chaque expert donne son avis et peut exprimer une position divergente.

Les experts adoptent à l'unanimité des présents les conclusions de l'expertise relative aux nanomatériaux dans les produits destinés à l'alimentation (saisine 2016-SA-0226).

M. Bruno LE BIZEC
Président du CES ERCA 2018-2022