

INSTRUCTION DU 27 NOVEMBRE 1986

concernant l'application de l'arrêté du 13 novembre 1986 relatif aux dossiers de demande d'autorisation d'emploi des constituants de matériaux et objets mis ou destinés à être mis au contact des denrées, produits et boissons alimentaires

(BOCC n° 86-23 du 3 décembre 1986)

Le ministre d'Etat, ministre de l'économie, des finances et de la privatisation, et le ministre des affaires sociales et de l'emploi à Messieurs les commissaires de la République de régions, Madame et Messieurs les commissaires de la République de départements, aux services extérieurs de la concurrence, de la consommation et de la répression des fraudes et aux services extérieurs des affaires sanitaires et sociales.

L'arrêté du 13 novembre 1986, pris en application de l'article 3 du décret n° 73-138 du 12 février 1973 relatif aux matériaux et objets au contact des denrées, produits et boissons destinés à l'alimentation de l'homme et des animaux, a pour objet d'assurer l'homogénéité de forme et de fond des dossiers de demande d'autorisation d'emploi des constituants de ces matériaux et objets en précisant la nature des informations qui doivent y être indiquées.

L'attention des requérants est instamment appelée sur l'intérêt de se conformer aux articles 2, 3 et 4 de cet arrêté ou, en ce qui concerne la coloration des matériaux et objets, à l'article 5 de ce texte.

La présente instruction apporte des informations détaillées notamment sur le protocole d'expérimentation physio-toxicologique prévu au paragraphe 2.2.1, article 3, de cet arrêté.

1. Protocole d'expérimentation physio-toxicologique

Le présent protocole est établi en tenant compte de l'importance de la contamination des aliments pouvant résulter de leur contact avec les matériaux ou objets et de la toxicité probable de la substance faisant l'objet de la demande d'autorisation.

Ce protocole a une valeur indicative, toutefois il n'en constitue pas moins le cadre technique essentiel sur lequel s'appuiera le rapporteur du dossier et à partir duquel le Conseil supérieur d'hygiène publique de France formulera son avis.

En général, trois types de déterminations physio-toxicologiques seront effectués.

- 1.1. Toxicité aiguë avec calcul de la DL 50.
- 1.2. Toxicité par administration répétée à moyen terme.
- 1.3. Tests de mutagenèse.

Bien que la toxicité aiguë d'un constituant des matériaux et objets au contact des aliments ne constitue généralement pas une menace, il convient en effet de procéder à la détermination de la dose létale 50 (DL 50), qui constitue la première phase d'une étude toxicologique. Cette détermination permet de fixer les doses qui peuvent être administrées lors d'expérimentations à plus ou moins longue échéance.

Si l'on se limite à une expérimentation de quatre-vingt-dix jours, une telle expérimentation s'avère dans la plupart des cas insuffisante pour une substance cancérigène, aussi apparaît-il nécessaire de l'accompagner de tests de mutagenèse qui, s'ils sont négatifs, indiquent qu'une action génotoxique est statistiquement peu probable.

Le choix des animaux d'expérience pose également un problème, car si, dans le cas du rat, quatre-vingt-dix jours représentent environ le dixième de la vie, il faudrait pour le chien envisager une expérimentation de plus d'un an pour avoir des garanties analogues. C'est pourquoi l'expérimentation sur le chien doit être réservée à des cas spéciaux, lorsque, par exemple, soit les résultats obtenus sur le rat, soit une étude métabolique et toxicocinétique montrent qu'elle est nécessaire.

D'ailleurs, lorsque les résultats de l'expérimentation de quatre-vingt-dix jours sur le rat montrent une possibilité de nocivité, compte tenu de l'importance de la migration, il sera également nécessaire de la poursuivre plus longtemps.

Dans des conditions de migration non négligeables, mais néanmoins acceptables compte tenu du bénéfice technologique, compte tenu également de la série chimique à laquelle appartient la substance ainsi que des résultats des investigations précédentes (toxicité à moyen terme, mutagenèse), il pourra être demandé des investigations complémentaires ayant trait aux fonctions de reproduction, au pouvoir cancérigène, au pouvoir sensibilisant.

En raison de l'intérêt d'une harmonisation des réglementations des pays membres de la CEE, il est souhaitable de reprendre les propositions du comité scientifique de l'alimentation humaine (CEE, rapports du comité scientifique de l'alimentation humaine, troisième série, 1977).

1.1. *Epreuves de toxicité aiguë*

Ces épreuves doivent être effectuées, généralement par voie orale, sur au moins deux espèces animales. L'une d'elles, au moins, devra permettre la détermination de la DL 50, de préférence sur le rat. Pour les autres épreuves, on utilisera de préférence un non-rongeur, sur lequel une observation complète des manifestations de la toxicité aiguë sera pratiquée (signes cliniques, circonstances de la mort, examens anatomo-pathologiques, etc.).

1.1.1. Détermination de la DL 50

On utilisera des groupes de dix animaux (cinq de chaque sexe), par dose administrée.

Les animaux – dont la souche sera précisée – seront en bonne santé et accoutumés à l'animalerie depuis une semaine au moins. On utilisera de jeunes adultes (trois à quatre mois) dont le poids ne devra pas s'éloigner de plus de 20 % du poids moyen de l'ensemble des lots.

Les doses administrées (au minimum au nombre de six) seront choisies, de préférence, en progression géométrique de telle façon que l'une d'entre elles ne provoque aucune mortalité (DL 0) et que la plus élevée tue tous les animaux (DL 100), si cela est possible. L'administration se fera par sonde gastrique, le produit étant en solution soit dans l'eau, soit dans l'huile ou, s'il est insoluble, en suspension dans un milieu adéquat, la nature de l'aliment destiné à se trouver au contact pouvant être prise en considération.

Lorsqu'une dose de 2,5 grammes par kilogramme ne provoque aucune mortalité, il n'est pas nécessaire de poursuivre l'expérimentation.

Pour l'administration des doses et le calcul de la DL 50, on utilisera une méthode normalisée ou, à défaut, l'expert justifiera la méthode employée. L'évaluation sera effectuée après une observation de quatorze jours suivant l'administration. Les décès étant relevés quotidiennement, l'autopsie devra être pratiquée aussi rapidement que possible après la mort. Tous les animaux survivants (témoins et traités) seront sacrifiés au 14^e jour.

Des examens histologiques pourront être pratiqués afin de compléter l'examen macroscopique.

1.1.2. Examens complémentaires

Ils ont notamment pour but de rechercher s'il y a des différences entre les espèces animales.

Si l'on utilise comme non rongeur le chien, le nombre d'animaux pourra être limité à deux (un de chaque sexe). Les doses administrées seront choisies d'après les résultats de l'expérimentation précédente. Par exemple, on pourra utiliser la DL 0 du rat et si les animaux meurent (le chien est alors plus sensible que le rat), on utilisera une dose moindre. S'il n'y a pas de mortalité dans ces conditions, on administrera une dose telle que la mortalité soit observée sans dépasser toutefois 2,5 grammes par kilogramme.

On observera l'évolution pondérale, l'apparition de signes cliniques et le cas échéant les circonstances de la mort, que l'on décrira en détail.

Au cas où des anomalies persisteraient au 14^e jour, notamment chute constante de la courbe pondérale, l'observation devra être poursuivie au-delà des 14 jours, tout au moins sur les animaux les plus atteints.

1.2. *Epreuves de toxicité par administration répétée*

1.2.1. Généralités

Cette épreuve est destinée à mettre en évidence des altérations fonctionnelles et/ou anatomo-pathologiques pouvant résulter de l'administration du produit à essayer pendant une période de temps suffisamment prolongée pour que ces altérations puissent se manifester (dixième de la vie en principe).

En règle générale, cette épreuve s'effectuera sur le rat, dont la durée de vie est compatible avec l'obtention d'une information rapide, c'est-à-dire par un test de quatre-vingt-dix jours. L'administration doit s'effectuer par voie orale à des niveaux de doses différentes. On tiendra compte du type de matériau dans lequel le produit à essayer devra être incorporé et de la nature des denrées qui entreront au contact du matériau pour déterminer les conditions d'administration proprement dites.

1.2.2. Conduite de l'essai

L'essai sera conduit sur au moins trois lots de rats traités, chaque lot étant soumis à une dose déterminée, par rapport à un lot témoin. Ces lots seront constitués d'au moins vingt animaux, avec un nombre égal de mâles et de femelles. La souche sera définie avec précision, les animaux mis en expérimentation devant être âgés d'un mois à six semaines. Le poids de chaque animal ne devra pas s'écarter de plus de 20 % par rapport au poids moyen de l'ensemble des animaux des lots. Ils devront avoir été acclimatés une semaine au moins à l'animalerie.

Les doses choisies doivent prendre en compte les résultats de la DL 50 et éventuellement les résultats d'un test préliminaire par administration répétée de durée plus limitée. Les niveaux de dosage retenus doivent être tels qu'il soit possible de déterminer la dose sans effet et les doses avec effet et d'établir, dans la mesure du possible, les relations doses-effets pour les actions observées. L'administration se fera par incorporation dans l'alimentation de préférence. Bien entendu, il sera tenu compte du type d'aliment pouvant être au contact du matériau ou de l'objet. Une surveillance étroite de la consommation alimentaire des animaux, afin de pouvoir effectuer les ajustements nécessaires, est indispensable.

Les investigations pratiquées seront de diverses natures :

- surveillance clinique quotidienne minutieuse avec description détaillée des signes observés. Certains examens (fond d'œil) peuvent être hebdomadaires ;
- établissement des courbes de croissance pondérale, de consommation alimentaire et de consommation d'eau de boisson par mesure hebdomadaire ;
- surveillance biologique réalisée avant l'expérimentation, 45 jours après son début et juste avant le sacrifice. Elle portera sur des données hématologiques (numération et formule sanguine,

hémoglobiniémie, hématocrite...) et biochimiques, en rapport, notamment, avec l'état fonctionnel d'organes essentiels comme le foie et le rein (transaminases, phosphatases alcalines, urée, créatinine sérique, etc.). Des épreuves fonctionnelles hépatiques et rénales pourront être pratiquées avant le sacrifice, notamment, si l'évolution des paramètres précédents fait suspecter une atteinte de ces organes ;

- examen anatomo-pathologique qui devra porter sur les animaux morts en cours d'essais et sur ceux sacrifiés au délai de quatre-vingt-dix jours, aussi rapidement que possible après la mort. On pratiquera un examen macroscopique soigneux des organes, accompagné de la pesée de certains d'entre eux (foie, reins, cœur, surrénales, thyroïde notamment). Un examen histologique complétera ces observations et mesures, et devra concerner l'ensemble des viscères.

Dans tous les cas où cela est possible, les résultats de l'ensemble de ces investigations devront faire l'objet d'une évaluation statistique à l'aide de méthodes appropriées.

Dans la mesure où l'on constaterait des risques quelconques de faits toxicologiques spécifiques, ceux-ci devront faire l'objet d'une étude particulière visant à en définir la nature précise et à tenter d'en élucider les mécanismes. D'autre part, cette épreuve de quatre-vingt-dix jours devra être poursuivie au-delà de ce délai si des anomalies suggèrent une aggravation de l'état des animaux (par exemple : apparition progressive d'une mortalité ou de troubles dans les lots traités par les plus faibles doses). L'appréciation de la réversibilité des anomalies relevées peut également être nécessaire.

1.3. *Epreuves de mutagénèse*

La détermination d'un éventuel pouvoir mutagène à l'aide de tests courts sera toujours effectuée, sauf difficultés techniques particulières qu'il appartiendra à l'expert de justifier. Ces tests permettent, avec une bonne probabilité, de dépister de nombreux agents cancérogènes, à l'exception des promoteurs. A l'heure actuelle, de nombreux tests ont été validés et, pour cette raison, et aussi pour ne pas figer une situation susceptible de connaître dans l'avenir de grands progrès, on se limitera à indiquer que l'évaluation des risques mutagènes sera appréciée à l'aide :

- d'au moins un test de mutation génique (sur souches microbiennes, par exemple) ;
- d'au moins un test d'aberrations chromosomiques, en recommandant les techniques cytogénétiques sur des cultures de cellules de mammifères.

Ces tests devront être pratiqués sans et avec activation microsomiale du produit à étudier. L'efficacité et la fiabilité des systèmes mis en œuvre devront toujours être prouvées à l'aide de substances témoins positives et négatives. Dans le cas où l'activation métabolique ferait apparaître un pouvoir mutagène, un test complémentaire in-vivo s'avérera nécessaire.

En cas de résultats contradictoires, la mise en œuvre de plusieurs autres types de tests de mutagenèse pourra être indispensable (mutation génique sur cellules eucaryotes, mise en évidence d'altérations primaires ADN). Si ces nouveaux résultats mettent en évidence un pouvoir mutagène, la réalisation d'études à long terme de cancérogénèse in-vivo (deux ans sur le rat et dix-huit mois sur la souris) est indispensable.

2. Cas des pigments et colorants

(Art. 5 de l'arrêté du 13 novembre 1986)

En ce qui concerne les pigments et colorants utilisés dans les matériaux et objets mis ou destinés à être mis au contact des denrées, produits et boissons alimentaires, doivent être pris en compte les éléments figurant à l'article 5 de l'arrêté du 13 novembre 1986.

En effet, leur migration, c'est-à-dire le passage de pigments ou colorants dans des denrées alimentaires constitue, par la coloration de la denrée alimentaire que leur migration entraînerait en général, un caractère absolument rédhibitoire rendant l'aliment ainsi coloré non commercialisable. La caractéristique primordiale que l'on doit exiger des pigments et colorants destinés à être utilisés dans les matériaux et objets mis ou destinés à être mis au contact de denrées, produits et boissons alimentaires est leur absence totale de migration. Les pigments et colorants qui ne migrent pas dans les denrées alimentaires ne sauraient, dans les conditions normales d'utilisation, constituer un risque pour la santé. Il peut donc être admis de ne pas exiger, pour les pigments et colorants, d'autres examens toxicologiques que ceux demandés à l'article 5 de l'arrêté du 13 novembre 1986, dès lors qu'est réalisée la condition de leur absence de migration indispensable sur le plan commercial et obligatoire sur le plan réglementaire (art. 2 du décret du 12 février 1973).

*Le ministre d'Etat, ministre de l'économie,
des finances et de la privatisation,*

Pour le ministre et par délégation :

*Le directeur général de la concurrence,
de la consommation et de la répression des fraudes,*

C. BABUSIAUX

Le ministre des affaires sociales et de l'emploi,

Pour le ministre et par délégation :

Le directeur général de la santé,

J.-F. GIRARD