

Le directeur général

Maisons-Alfort, le 1^{er} octobre 2024

NOTE
d'appui scientifique et technique
de l'Agence nationale de sécurité sanitaire
de l'alimentation, de l'environnement et du travail

relatif à l'analyse des données fournies dans le cadre de l'évaluation du dioxyde de titane (TiO₂) dans les produits cosmétiques¹

L'Anses a été saisie le 14 août 2024 par la direction générale de la santé (DGS) et la Direction générale de la concurrence, de la consommation, et de la répression des fraudes (DGCCRF) pour la réalisation de l'appui scientifique et technique suivant : analyse des données fournies dans le cadre de l'évaluation du dioxyde de titane dans les produits cosmétiques.

1. CONTEXTE ET OBJET DE LA DEMANDE

Le dioxyde de titane (TiO₂) est présent dans de nombreux produits pouvant être utilisés à la fois par les professionnels et les consommateurs. Ainsi, il fait l'objet d'évaluations régulières, en particulier de ses formes nanométriques, dans le cadre de différentes réglementations (Reach, CLP, additif alimentaire, cosmétique, etc).

Le TiO₂ est un ingrédient cosmétique autorisé (CE n° 1223/2009) comme colorant sous sa forme micrométrique (ou pigmentaire) et en tant que filtre UV, à la fois sous sa forme pigmentaire et nanométrique. Dans ce cadre, le comité scientifique pour la sécurité des consommateurs (CSSC) a publié plusieurs avis relatifs à la sécurité du TiO₂ dans les produits cosmétiques (SCCS/1516/13, SCCS/1580/16, SCCS/1617/20). Ses usages sont ainsi encadrés dans les annexes IV et VI du règlement n° 1223/2009.

Suite à la préoccupation soulevée par l'Autorité européenne de sécurité des aliments (EFSA) concernant la génotoxicité du TiO₂, les services de la Commission européenne ont reçu, en

¹ Cette version annule et remplace celle du 2 septembre 2024. Les modifications sont tracées en annexe 3.

2022, un dossier de l'industrie incluant une revue mise à jour des connaissances sur la génotoxicité du TiO₂.

Dans ce cadre, les services de la Commission européenne ont mandaté le comité scientifique pour la sécurité des consommateurs (CSSC) pour réévaluer la sécurité du TiO₂, en se focalisant sur l'exposition par inhalation et par voie orale des consommateurs et sur la génotoxicité potentielle de la substance.

Le CSSC a publié un avis préliminaire en décembre 2023 concernant une vaste gamme de grades² de TiO₂ présent dans les produits cosmétiques, soit 44 grades pigmentaires et 40 grades nanométriques. Le CSSC concluait que les données disponibles n'étaient pas suffisantes pour exclure le potentiel génotoxique de la plupart des grades de TiO₂ utilisés dans les cosmétiques, sauf pour deux grades nanométriques (RM09 et RM11). De plus, le CSSC a considéré que des données complémentaires étaient nécessaires concernant le potentiel d'internalisation du TiO₂ dans les cellules de la muqueuse orale pour conclure sur la sécurité de l'utilisation de produits cosmétiques contenant du TiO₂. Des commentaires ont été soumis par l'Anses dans le cadre de la consultation publique qui s'est tenue entre décembre 2023 et février 2024 (annexe 1). L'avis³ finalisé du CSSC a été publié en mai 2024.

En réponse à ces conclusions, un document⁴ émanant du secteur industriel (Cosmetics Europe et & Titanium Dioxide Manufacturers Association (TDMA)) a été partagé aux Etats-membres le 16 mai 2024 afin de présenter leur feuille de route. Cette feuille de route propose de générer des données sur certains grades de TiO₂ en se basant sur des approches de regroupement.

Parmi les approches de regroupement de nanomatériaux, des publications scientifiques (Braakhuis et al. 2021⁵, Di Cristo et al. 2021⁶ et 2022⁷), réalisées dans le cadre du projet européen GRACIOUS, ont été partagées par les Pays-Bas à l'ensemble des Etats-membres.

Ainsi, l'Anses a été sollicitée par la DGS et la DGCCRF pour examiner la feuille de route ainsi que les approches de regroupement dont s'inspire le secteur industriel.

² Terminologie utilisée par l'industrie pour définir les différentes formes de TiO₂ revendiquées pour des usages cosmétiques (SCCS/1661/23). Ce terme pourrait correspondre à « nanoforme » selon l'annexe VI du règlement REACH.

³ SCCS (Scientific Committee on Consumer Safety), Scientific Advice on Titanium dioxide (TiO₂), CAS/EC numbers 13463-67-7/236-675-5, 1317-70-0/215-280-1, 1317-80-2/215-282-2, preliminary version of 4 December 2023, final version of 13 May 2024, SCCS/1661/23

⁴ Summary for the European Union Member State Competent Authorities (EU MS) including a detailed ROADMAP for the subsequent delivery to data on Titanium Dioxide

⁵ Braakhuis HM, Murphy F, Ma-Hock L, Dekkers S, Keller J, Oomen AG, Stone V. 2021. An Integrated Approach to Testing and Assessment to Support Grouping and Read-Across of Nanomaterials After Inhalation Exposure. *Appl In Vitro Toxicol.* 1;7(3):112-128. doi: 10.1089/aivt.2021.0009.

⁶ Di Cristo, Luisana, Agnes G. Oomen, Susan Dekkers, Colin Moore, Walter Rocchia, Fiona Murphy, Helinor J. Johnston, Gemma Janer, Andrea Haase, Vicki Stone, and et al. 2021. "Grouping Hypotheses and an Integrated Approach to Testing and Assessment of Nanomaterials Following Oral Ingestion" *Nanomaterials* 11, no. 10: 2623. <https://doi.org/10.3390/nano11102623>

⁷ Di Cristo, Luisana, Gemma Janer, Susan Dekkers, Matthew Boyles, Anna Giusti, Johannes G. Keller, Wendel Wohlleben, et al. 2022. "Integrated Approaches to Testing and Assessment for Grouping Nanomaterials Following Dermal Exposure." *Nanotoxicology* 16 (3): 310–32. doi:10.1080/17435390.2022.2085207.

2. ORGANISATION DES TRAVAUX

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) ».

Ne s'agissant pas d'une évaluation des risques, l'instruction de la présente note a été conduite en mobilisant l'expertise interne de la Direction de l'évaluation des risques de l'Anses. Le délai imparti pour cette expertise n'a pas permis d'inclure une analyse critique de l'ensemble des approches de regroupement qui pourraient être disponibles dans la littérature. Elle s'est donc focalisée sur une analyse critique de la feuille de route de l'industrie du TiO₂ ainsi que des trois publications partagées par les Pays-Bas. Par ailleurs, elle tient également compte des commentaires formulés précédemment par l'Anses dans le cadre de la consultation publique sur l'opinion préliminaire du CSSC (annexe 1).

3. ANALYSE ET CONCLUSIONS

3.1. Génotoxicité du TiO₂

Le mandat donné au CSSC par la Commission européenne concerne la réévaluation de la sécurité du TiO₂, en se focalisant sur la génotoxicité et sur l'exposition par inhalation et par voie orale.

Par conséquent, ce présent document se focalise principalement sur cette propriété de danger pour ces voies d'exposition.

Dans sa réponse à un commentaire danois, l'industrie⁸ déclare que le poids de la preuve soutient clairement que la génotoxicité du TiO₂ résulte d'un mécanisme indirect, à seuil de dose. L'Anses constate que les données disponibles dans la littérature sont majoritairement en faveur d'une génotoxicité secondaire à la génération d'un stress oxydant (Charles et al.2018⁹ ; Cao et al.2023¹⁰ ; Kirkland et al.2022¹¹). D'après la 12^{ème} révision du document guide du CSSC sur l'évaluation de la sécurité des ingrédients cosmétiques (SCCS/1647/22¹²), il est indiqué que ce type de mécanisme pourrait être associé à un seuil de toxicité. Cependant, à ce jour, les données sur le TiO₂ ne permettent pas d'écarter totalement d'autres mécanismes, en particulier la génotoxicité directe.

Dans sa feuille de route, l'industrie propose de réaliser deux types d'études de mutagénicité *in vitro* : des tests de mutations géniques (OCDE 476) et des tests du micronoyau (OCDE

⁸ Le terme industrie dans cette note se réfère à Cosmetics Europe et TDMA

⁹ Charles S, Jomini S, Fessard V, Bigorgne-Vizade E, Rousselle C, Michel C. Assessment of the *in vitro* genotoxicity of TiO₂ nanoparticles in a regulatory context. *Nanotoxicology*. 2018 May;12(4):357-374. doi: 10.1080/17435390.2018.1451567. Epub 2018 Mar 19. PMID: 29553842.

¹⁰ Cao, Yue, Jinyao Chen, Qian Bian, Junyu Ning, Ling Yong, Tong Ou, Yan Song, and Sheng Wei. 2023. "Genotoxicity Evaluation of Titanium Dioxide Nanoparticles In Vivo and In Vitro: A Meta-Analysis" *Toxics* 11, no. 11: 882.

¹¹ David Kirkland, Marilyn J. Aardema, Rüdiger V. Battersby, Carol Beevers, Karin Burnett, Arne Burzlaff, Andreas Czich, E. Maria Donner, Paul Fowler, Helinor J. Johnston, Harald F. Krug, Stefan Pfuhrer, Leon F. Stankowski, A weight of evidence review of the genotoxicity of titanium dioxide (TiO₂), *Regulatory Toxicology and Pharmacology*, Volume 136, 2022, 105263, ISSN 0273-2300.

¹² https://health.ec.europa.eu/publications/sccs-notes-guidance-testing-cosmetic-ingredients-and-their-safety-evaluation-12th-revision_en

487). Ces études seront associées à une analyse de l'internalisation des particules. L'industrie n'indique ni le nombre ni l'identité des grades qui seront testés (voir tableau 1 de la feuille de route).

L'Anses rappelle l'importance que ces données soient en accord avec des protocoles validés et répondant aux lignes directrices de tests appropriés pour évaluer la génotoxicité potentielle des nanomatériaux.

Ainsi, dans le cadre de la consultation publique sur l'avis préliminaire du CSSC (annexe 1), l'Anses avait noté, entre autres, que les études de mutagénicité disponibles pour les grades RM09 et RM11 avaient été réalisées en considérant uniquement un temps d'exposition prolongée (24 heures) alors qu'un traitement de courte durée (3-6 heures) est également défini dans les lignes directrices de l'OCDE 476 et 487. L'Anses considérait qu'il n'y avait pas lieu d'y déroger en l'absence de recommandation de l'OCDE sur la non pertinence de ce temps d'exposition pour les nanomatériaux. Par ailleurs, la validité d'un test de mutagénicité passe par l'inclusion d'un contrôle positif. L'Anses rappelait donc dans ses commentaires, que ce contrôle doit présenter une réponse cohérente avec les bases de données des contrôles historiques. Cela n'avait pas été démontré de façon adéquate dans le cadre de l'étude du micronoyau réalisée avec le RM09.

Par ailleurs, toujours dans le cadre de cette consultation publique, l'Anses avait formulé des commentaires en lien avec les données d'internalisation des particules de TiO₂ dans les cellules épithéliales. L'Anses avait considéré que ces études devaient être réalisées à des doses cohérentes de celles des études de génotoxicité et qu'une internalisation complète devait être démontrée (à l'aide de la microscopie à haute résolution), ce qui n'était pas le cas pour les deux grades testés (RM09 et RM11).

3.2. Interprétation de l'article 27 bis de l'annexe VI du règlement cosmétique (CE n° 1223/2009)

Le TiO₂ sous forme nanométrique fait l'objet de dispositions réglementaires en tant que filtre UV dans le règlement cosmétique (entrée 27 bis de l'annexe VI). En particulier cette entrée 27 bis indique que les grades de TiO₂ autorisés doivent notamment présenter une valeur médiane de la taille des particules ≥ 30 nm sur la base de la distribution numérique par taille.

Du fait de l'évolution des techniques analytiques pour la caractérisation des nanomatériaux, les contrôles effectués par les autorités françaises, *via* des méthodes actuellement recommandées (Echa¹³, JRC¹⁴, CSSC¹⁵, Anses¹⁶), montrent un nombre croissant de non-conformité de produits cosmétiques au regard de l'entrée 27 bis. Ce point a été soulevé par les autorités françaises lors du groupe de travail sur les cosmétiques de mars 2024.

¹³ Appendix for nanoforms applicable to the Guidance on Registration and Substance Identification (Echa,2022)

¹⁴ Rauscher et al., Identification of nanomaterials through measurements (JRC 2019)

¹⁵ Guidance on the Safety Assessment of Nanomaterials in Cosmetics, 2nd revision, 6 June 2023 (SCCS/1655/23).

¹⁶ Rapport d'analyse scientifique et technique relatif à la revue des méthodes analytiques disponibles pour la caractérisation des nano-objets, de leurs agrégats et agglomérats en vue de répondre aux exigences réglementaires (Anses 2020)

https://www.anses.fr/fr/system/files/AP2018SA0168Ra_0.pdf

Les principaux arguments avancés par l'industrie dans sa réponse sont les suivants :

1/ les données de l'industrie soumises en 2013, ayant servi à l'élaboration de l'entrée 27 bis, étaient basées sur des distributions de taille des particules obtenues avec les techniques CPS Disc Centrifuge, LUMisizer centrifuge et DLS. Au contraire, les contrôles réalisés par la DGCCRF se basent sur la microscopie électronique. Les non-conformités peuvent donc s'expliquer par les différences dans les protocoles de dispersion et les techniques employées pour le calcul des distributions de taille des particules ;

2/ les particules de TiO₂ existent principalement sous forme d'agrégats/agglomérats plutôt qu'en particules bien dispersées, rendant difficile la caractérisation des particules primaires.

Concernant le premier point, l'Anses observe que les techniques de CPS Disc Centrifuge, LUMisizer centrifuge et DLS (dynamic light scattering) ne donnent pas accès aux particules primaires constitutives, mais plutôt aux agglomérats/agrégats. Selon l'annexe L de l'avis du CSSC de 2023 (SCCS/1661/23), 32/40 grades de TiO₂ nanométriques présentent des tailles médianes de particules primaires inférieures à 30 nm (taille médiane la plus basse étant de 9 nm) sur la base d'une analyse par microscopie électronique.

Concernant le deuxième point, selon l'Anses, même si l'échantillon est aggloméré/agrégé, cela n'empêche pas d'avoir accès à la distribution de taille des particules primaires. En effet, depuis 2013, l'état des méthodologies et connaissances en termes de caractérisation des nanomatériaux a évolué.

L'Anses constate donc que les caractérisations physicochimiques des nanomatériaux présentées dans les avis du CSSC de 2013 (SCCS/1516/13) et notamment les méthodes de mesures de taille, ne sont plus à jour et ne devraient plus servir de base à l'entrée 27 bis.

En conséquence, l'Anses recommande :

- de tenir compte des progrès scientifiques et techniques dans le domaine de la caractérisation des nanomatériaux. Pour ce faire, l'Anses se réfère aux documents guides du CSSC (SCCS/1655/23)¹⁷ et du JRC¹⁸ ainsi que le rapport d'analyse scientifique et technique relatif à la revue des méthodes analytiques réalisé par l'Anses (lien dans la note de bas de page n°15). L'ensemble de cette documentation fournit

¹⁷ D'après les lignes directrices sur l'évaluation de la sécurité des nanomatériaux dans les cosmétiques (SCCS/1655/23), le CSSC recommande de prendre en compte la recommandation de la Commission européenne de juin 2022 (et toute révision éventuelle de la définition) lors de l'évaluation de la sécurité des ingrédients cosmétiques composés de petites particules ou en contenant, même si celle-ci ne s'applique pas encore aux cosmétiques. De plus, selon le CSSC, la détermination des paramètres de taille des nanomatériaux doit inclure l'utilisation d'une méthode de microscopie électronique (EM).

¹⁸ Le JRC a élaboré des guides méthodologiques pour la mise en œuvre de la définition des nanomatériaux de la Commission Européenne. Selon le JRC, le DLS et autres méthodes basées sur la sédimentation des particules dans un champ centrifuge sont des méthodes de screening.

- Elles ne donnent pas accès aux dimensions externes mais à des diamètres hydrodynamiques équivalents.

- Elles mesurent la taille des agrégats/agglomérats et non celle des particules constitutives.

- Elles ne permettent pas de calculer des distributions en nombre avec une faible incertitude.

Selon le JRC, "les méthodes de confirmation », comme la microscopie électronique, permettent d'identifier les particules constitutives au sein des agglomérats et des agrégats et de mesurer leurs dimensions externes.

des orientations sur la définition du terme "nanomatériau" et sur les méthodes analytiques à considérer pour la mise en œuvre de cette définition ainsi que sur les exigences de données relatives à l'évaluation de la sécurité des nanomatériaux dans les cosmétiques ;

- sur la base de ces références, de revoir les données de caractérisation physicochimiques présentées dans l'avis de 2013 avec les méthodes de référence actuelles au cas où des grades analysés en 2013 ne soient pas couverts par l'avis du CSSC de 2023 dans lequel les distributions de tailles sont établies par microscopie électronique ;
- d'actualiser les caractéristiques physicochimiques du TiO₂ figurant dans les conditions d'utilisation de l'annexe VI, entrée 27 bis. Le fait qu'il soit fait mention de « particules » peut laisser penser à tort qu'il ne s'agit pas de particules primaires mais de particules agrégées ou agglomérées. L'entrée 27 bis du règlement doit faire référence à la terminologie de particules constitutives primaires telle que définie par le document guide du CSSC sur l'évaluation des nanomatériaux. Celles-ci doivent être mesurées avec des méthodes analytiques listées par les documents guides du CSSC et du JRC. Préciser le terme « particules constitutives primaires » dans l'entrée, permettrait d'apporter plus de clarté.

3.3. Regroupement des grades

La présente analyse se focalise sur l'analyse des trois publications traitant du regroupement des nanomatériaux et de la feuille de route de l'industrie. Le principe de regroupement des nanomatériaux fait l'objet de discussions depuis plusieurs années sans qu'une méthodologie validée et/ou harmonisée pour une application réglementaire n'ait été adoptée par la communauté scientifique et/ou une instance européenne. Des incertitudes et des limites persistent notamment en lien avec la spécificité de la nanoéchelle qui rend d'autant plus complexe l'établissement de similitudes entre nanoformes.

Il est considéré dans la feuille de route qu'il n'est pas nécessaire de tester chacun des 84 grades de TiO₂ ayant des usages cosmétiques et il est proposé par l'industrie de réaliser les tests sur une sélection plus restreinte de grades.

Pour répondre aux préoccupations soulevées par le CSSC concernant l'approche de regroupement basée sur des paramètres physicochimiques et la génération d'études toxicologiques, l'industrie fait référence à deux méthodologies :

- 1/ celle décrite dans la décision de l'ECHA (ECHA, 2021¹⁹) dans le contexte de l'évaluation de la toxicité par inhalation du TiO₂ sous Reach, pour laquelle la France est l'Etat membre évaluateur,
- 2/ une publication (Stone et al. 2020) issue du projet de recherche européen GRACIOUS, financé dans le cadre du Programme H2020²⁰.

¹⁹ <https://echa.europa.eu/fr/information-on-chemicals/evaluation/community-rolling-action-plan/corap-table/-/dislist/details/0b0236e1807ebca5>

²⁰ [Home | Gracious \(h2020gracious.eu\)](https://www.gracious.eu/)

Ainsi, l'industrie propose de mener les études toxicologiques sur une sélection de 11 grades représentatifs des 84 grades à évaluer, en se basant sur la similarité des paramètres physicochimiques. L'Anses note que les grades sélectionnés ne sont ni définis, ni justifiés dans la feuille de route.

Concernant le point 1/, l'Anses indique que la décision de l'ECHA définissant la demande d'études à réaliser dans le cadre de Reach se focalise uniquement sur la toxicité du TiO₂ par inhalation et couvre des formes de TiO₂ qui n'ont pas toutes un usage cosmétique. Dans ce contexte, un certain nombre de formes de TiO₂ ont été sélectionnées à partir de critères physicochimiques pertinents pour l'exposition par inhalation. Le but des études requises est d'investiguer l'impact de ces paramètres sur la toxicité par voie respiratoire (incluant la génotoxicité pulmonaire). Elle consiste donc en une étape préliminaire visant à définir un protocole d'études de toxicité répétée *in vivo* par inhalation. L'applicabilité de cette approche pour des expositions par voie orale n'a pas été évaluée.

Concernant le point 2/, l'Anses considère que l'approche de regroupement proposée dans le cadre du projet européen GRACIOUS est utile pour prioriser les substances en vue de sélectionner celles dont la toxicité doit être analysée. Néanmoins, ce type d'approche n'étant pas validé, elle ne peut constituer qu'une étape préliminaire à l'analyse de la toxicité des substances, sans remplacer la génération d'études si elles sont nécessaires.

L'Anses a analysé 3 articles, publiés dans le cadre du projet GRACIOUS entre 2020 et 2022 par la même équipe (V. Stone²¹, H. M. Braakhuis²², L. Di Cristo²³) (voir annexe 2).

Ces articles proposent des hypothèses de regroupement des nanoformes après exposition par voie inhalée, orale ou cutanée, afin de faciliter l'évaluation des risques. Ces regroupements se font selon des hypothèses détaillées par des approches intégrées de tests et d'évaluation (IATA²⁴). Le regroupement tient compte des caractéristiques physicochimiques des nanoformes (« what they are »), de la voie d'exposition, de la toxicocinétique (« where they go ») et du danger (« what they do »).

D'après ces articles, le regroupement inclut des critères importants à analyser, tels que :

- les caractéristiques physico-chimiques des nanoformes, pertinentes en fonction de la voie d'exposition,
- la toxicocinétique et le comportement dans les milieux,
- des paramètres de danger pertinents en fonction de la voie d'exposition.

A l'inverse, la sélection des grades à tester telle que proposée par l'industrie (11 grades sur 84, non spécifiés) ne se fonde que sur certains paramètres physicochimiques (voir tableau 2 de la feuille de route). L'Anses considère que cela n'est pas suffisant pour l'évaluation de la sécurité. En effet, les articles scientifiques montrent l'intérêt d'inclure d'autres paramètres que ceux sélectionnés par l'industrie, tels que des propriétés physicochimiques additionnelles, des données de toxicocinétique et de comportement dans les milieux, ainsi que des critères de danger (annexe 2). En ce sens, l'Anses rappelle que le guide du CSSC (SCCS/1655/23) fournit un cadre structurant pour l'évaluation de la sécurité des nanomatériaux dans les produits

²¹ NanoSafety Research Group, Heriot Watt University, Edinburgh, United Kingdom.

²² Centre for Health Protection and Centre for Safety of Substances and Products, National Institute for Public Health and the Environment (RIVM), Bilthoven, The Netherlands.

²³ Nanoregulatory Platform, Drug Discovery and Development Department, Istituto Italiano Di Tecnologia, 16163 Genova, Italy.

²⁴ Integrated Approaches to Testing and Assessment

cosmétiques et identifie une liste non exhaustive des paramètres physicochimiques pertinents à caractériser. De plus, l'Anses note qu'il existe d'autres travaux qui mériteraient d'être pris en compte pour définir les critères clés, comme le guide de l'ECHA sur les stratégies de lecture croisée entre nanoformes (2019)²⁵ ou l'étude de cas de l'OCDE (2018)²⁶ concernant le regroupement et la lecture croisée pour les nanomatériaux avec un focus sur la génotoxicité du TiO₂.

Pour garantir la représentativité des grades testés pour les 84 grades utilisés dans les produits cosmétiques, l'Anses recommande que l'industrie mène une investigation exhaustive des similarités entre les différents paramètres physicochimiques en lien avec leur influence sur la réactivité et leur devenir dans les milieux biologiques. Les preuves de similarité sont d'autant plus importantes au vu du nombre important de grades proposés en cosmétique ayant des caractéristiques multiples, des voies d'exposition variées et des utilisations par des types de consommateurs différents, incluant des personnes sensibles et vulnérables. En conséquence, l'Anses considère que l'industrie doit garantir la représentativité des nanomatériaux testés pour l'ensemble des grades revendiqués, en fournissant des justifications scientifiques robustes. Ces justifications doivent être étayées par des tests montrant que les nanomatériaux avec des propriétés physicochimiques similaires présentent une même réactivité et un même comportement dans les milieux de tests.

Concernant le choix de la méthode de regroupement proposée, l'industrie fait uniquement référence au projet GRACIOUS et à la décision de l'ECHA. Néanmoins, l'Anses considère qu'il ne faut pas se limiter à ces approches, et rappelle qu'il existe d'autres documentations et des travaux en cours à prendre en compte pour apporter un éclairage sur la faisabilité du regroupement et des difficultés qui restent à résoudre, notamment :

- les projets en cours à l'ECHA: 'NM Risk Assessment: a regulatory way forward for sameness and grouping approaches' et 'Methodological developments and data generation for the assessment and building of sets of NFs';
- l'étude de cas de l'OCDE 2018 et le guide de l'ECHA (2019) mentionné au-dessus.

Par ailleurs, l'Anses souligne la nécessité de mener une analyse étayée de la littérature scientifique pour documenter les différentes approches de regroupement existantes afin de pouvoir apporter un regard critique sur la proposition de l'industrie.

En conclusion, l'Anses considère que l'approche définie à ce stade par l'industrie n'est pas suffisante pour démontrer la représentativité des grades qui seront testés pour l'ensemble des formes utilisées en cosmétique, d'autant plus en l'absence d'approche harmonisée pour le regroupement des nanomatériaux, des incertitudes associées et du nombre très élevé de grades utilisés en cosmétique.

En cas d'incertitudes trop importantes, une alternative serait de réduire le nombre de grades autorisés, aux seuls grades pour lesquels des données ont été générées et pour lesquels l'innocuité est démontrée.

²⁵ Appendix R.6-1 for nanoforms applicable to the Guidance on QSARs and Grouping of Chemicals

²⁶ Case study on grouping and read-across for nanomaterials – Genotoxicity of nano TiO₂

3.4. Evaluation de la sécurité

Le mandat donné au CSSC par les services de la Commission européenne concerne la réévaluation de la sécurité du TiO₂, en se focalisant sur la génotoxicité et sur l'exposition par inhalation et par voie orale.

Ainsi, le CSSC indique que les avis précédemment publiés (SCCS/1516/13, SCCS/1580/16) concernant les produits cosmétiques contenant du TiO₂ et appliqués par voie cutanée demeurent en vigueur pour les grades de TiO₂ couverts dans ces avis. Ces avis étant antérieurs au document guide du CSSC sur l'évaluation de la sécurité des nanomatériaux dans les cosmétiques (SCCS/1655/23), l'Anses recommande que ces évaluations soient mises à jour à la lumière de l'évolution des connaissances sur la caractérisation physicochimique des nanomatériaux.

Concernant les autres voies d'exposition :

L'Anses est en accord avec le CSSC qu'il ne peut normalement pas être défini de seuil de sécurité en cas de potentiel mutagène / génotoxique démontré, tel que mentionné dans le tableau 1 de la feuille de route.

Dans le cas contraire, l'évaluation de la sécurité doit tenir compte du profil toxicologique complet qui doit être représentatif des différents grades utilisés en cosmétique. Si cela n'est pas possible, une évaluation de la sécurité réalisée spécifiquement pour chaque grade revendiqué doit être envisagée.

Par ailleurs, dans sa feuille de route, l'industrie ne mentionne qu'une évaluation de la sécurité pour les cosmétiques contenant du TiO₂ et conduisant à une exposition par voie orale (ex. dentifrice).

L'Anses souhaite attirer l'attention sur le fait que de nombreuses publications rapportent des effets sur les fonctions de reproduction et de développement avec du TiO₂ sous forme nanométrique (par exemple Rolo et al. 2022²⁷ ; Dianova et al. 2022²⁸, Wang et al. 2018²⁹). La plupart de ces études ont été réalisées par voie orale avec du TiO₂ de cristallinité anatase et présentant des tailles comprises entre 6 à 21 nm. Aucune donnée n'est disponible pour des formes présentant un revêtement de surface ni pour les formes rutilles, formes particulièrement représentées en cosmétique. Par conséquent, en l'absence de telles données, il n'est pas possible de conclure si les effets observés dans la littérature sont extrapolables ou non aux grades utilisés en cosmétique. Cela mérite donc une attention particulière de la part du CSSC.

De plus, le TiO₂ en tant qu'additif alimentaire (E 171) fait l'objet d'une interdiction par la Commission européenne suite à l'avis de l'EFSA (2021) en raison des préoccupations génotoxiques qui n'ont pas pu être exclues.

²⁷ Rolo, Dora, Ricardo Assunção, Célia Ventura, Paula Alvito, Lídia Gonçalves, Carla Martins, Ana Bettencourt, et al. 2022. « Adverse Outcome Pathways Associated with the Ingestion of Titanium Dioxide Nanoparticles—A Systematic Review ». *Nanomaterials* 12 (19): 3275. <https://doi.org/10.3390/nano12193275>

²⁸ Dianová, Lucia, Filip Tirpák, Marko Halo, Tomáš Slanina, Martin Massányi, Robert Stawarz, Grzegorz Formicki, Roberto Madeddu, et Peter Massányi. 2022. « Effects of Selected Metal Nanoparticles (Ag, ZnO, TiO₂) on the Structure and Function of Reproductive Organs ». *Toxics* 10 (8): 459. <https://doi.org/10.3390/toxics10080459>.

²⁹ Wang, Ruolan, Bin Song, Junrong Wu, Yanli Zhang, Aijie Chen, et Longquan Shao. 2018. « Potential Adverse Effects of Nanoparticles on the Reproductive System ». *International Journal of Nanomedicine* 13: 8487-8506. <https://doi.org/10.2147/IJN.S170723>.

Au vu de ces différents éléments et dans l'attente de données complémentaires, l'Anses souligne l'importance de la réévaluation de la sécurité d'utilisation des produits cosmétiques contenant du TiO₂ et conduisant à une exposition par voie orale (ex. dentifrice).

Par ailleurs, des conditions d'utilisation et restrictions sont actuellement en vigueur pour le TiO₂ selon le règlement cosmétique pour des expositions par inhalation.

Ainsi, le TiO₂ nanométrique ne doit pas être utilisé dans des applications pouvant conduire à l'exposition des poumons de l'utilisateur final par inhalation quand la substance est utilisée comme filtre UV (entrée 27 bis de l'annexe VI). Concernant la forme pigmentaire, celle-ci est soumise à restriction sous la forme de poudre contenant 1% ou plus de particules d'un diamètre aérodynamique ≤ 10 µm (entrée 321 de l'annexe III et entrée 27 de l'annexe VI).

Dans le cadre de la consultation publique sur l'avis préliminaire du CSSC, l'Anses avait relevé que l'ensemble des grades pigmentaires et nanométriques présentait moins de 1% de particules d'un diamètre aérodynamique ≤ 10 µm, suggérant que la fraction de particules susceptibles de pénétrer dans les poumons après inhalation était faible voire nulle. L'Anses avait questionné la validité de ces résultats au regard des données de distribution particulaire (en particulier pour des grades avec des tailles bien inférieures à 100 nm) et de leur forme quasiment sphérique ou lancéolée.

4. CONCLUSIONS DE L'AGENCE

La Commission européenne a mandaté le comité scientifique pour la sécurité des consommateurs (CSSC) pour réévaluer la sécurité du TiO₂, en se focalisant sur l'exposition par inhalation et par voie orale des consommateurs et sur la génotoxicité potentielle de la substance. L'Agence avait répondu à la consultation publique de l'avis préliminaire du CSSC de décembre 2023³⁰. L'Anses soutenait la conclusion du CSSC sur les points suivants :

- que les données disponibles n'étaient pas suffisantes pour exclure le potentiel génotoxique du TiO₂ utilisé dans les cosmétiques ;
- que des données complémentaires étaient nécessaires pour conclure sur la sécurité de l'utilisation de produits cosmétiques contenant du TiO₂.

L'avis du CSSC a depuis été finalisé et publié en mai 2024.

En réponse à ces conclusions, le secteur industriel (Cosmetics Europe et & Titanium Dioxide Manufacturers Association (TDMA)) a présenté une feuille de route proposant de générer des données de génotoxicité et d'internalisation dans les cellules de la muqueuse orale, sur certains grades de TiO₂ en se basant sur des approches de regroupement.

L'Agence s'est focalisée sur une analyse de la feuille de route de l'industrie du TiO₂ ainsi que des trois publications partagées par les Pays-Bas sur une approche par regroupement citée dans la feuille de route.

L'Anses a formulé des commentaires notamment sur les points suivants :

- La génotoxicité du TiO₂ ;
- L'interprétation de l'entrée 27 bis de l'annexe VI du règlement cosmétique ;
- Le regroupement des grades de TiO₂ cosmétiques.

³⁰ Réponse en annexe 1 à la présente note

Concernant la génotoxicité, l'Anses insiste sur la nécessité d'obtenir des études fiables et pertinentes, répondant aux recommandations de l'OCDE et permettant de conclure sur la génotoxicité de l'ensemble des grades de TiO₂ utilisés en cosmétique.

L'Anses recommande également de tenir compte des progrès scientifiques et techniques dans le domaine de la caractérisation des nanomatériaux, pour actualiser les caractéristiques physicochimiques du TiO₂ figurant dans les conditions d'utilisation de l'annexe VI relative aux filtres solaires, entrée 27 bis.

Les approches de groupement de nanomatériaux font encore, à l'heure actuelle, l'objet de travaux de recherche, comme ceux menés dans le cadre du projet européen GRACIOUS, financé dans le cadre d'Horizon 2020. S'il n'existe pas encore d'approches harmonisées, la lecture par l'Anses de ces travaux conduit à recommander la prise en compte d'autres paramètres que les seules caractéristiques physico-chimiques décrites dans la démarche de regroupement proposée à ce jour par l'industrie. A défaut, les résultats risquent d'être associés à un niveau d'incertitudes fort, d'autant plus que le nombre de grades proposé en cosmétique est très élevé. Aussi, il est attendu de l'industrie de démontrer la représentativité des grades testés choisis. Dans le cas contraire, une alternative serait de réduire le nombre de grades autorisés aux seuls grades pour lesquels des données ont été générées et démontrant leur innocuité.

L'analyse critique menée par l'Agence identifie des fragilités dans la proposition de feuille de route de l'industrie pour apporter des données complémentaires. Cependant elle ne préjuge pas de l'évaluation qui pourra être réalisée par le CSSC sur la base des données complémentaires générées.

Pr Benoit Vallet

MOTS-CLÉS

Dioxyde de titane, évaluation de la sécurité, génotoxicité, regroupement des nanoformes.
Titanium dioxide, safety assessment, genotoxicity, grouping of nanoforme.

BIBLIOGRAPHIE

- Anses. « Revue des méthodes analytiques disponibles pour la caractérisation des nano-objets, de leurs agrégats et agglomérats en vue de répondre aux exigences réglementaires ». Maisons-Alfort: Anses, février 2020.
- Braakhuis, Hedwig M., Fiona Murphy, Lan Ma-Hock, Susan Dekkers, Johannes Keller, Agnes G. Oomen, et Vicki Stone. « An Integrated Approach to Testing and Assessment to Support Grouping and Read-Across of Nanomaterials After Inhalation Exposure ». *Applied In Vitro Toxicology* 7, n° 3 (1 septembre 2021): 112-28. <https://doi.org/10.1089/aivt.2021.0009>.
- Cao, Yue, Jinyao Chen, Qian Bian, Junyu Ning, Ling Yong, Tong Ou, Yan Song, et Sheng Wei. « Genotoxicity Evaluation of Titanium Dioxide Nanoparticles In Vivo and In Vitro: A Meta-Analysis ». *Toxics* 11, n° 11 (27 octobre 2023): 882. <https://doi.org/10.3390/toxics11110882>.
- CEU. JRC. *Identification of Nanomaterials through Measurements: Points to Consider in the Assessment of Particulate Materials According to the European Commission's Recommendation on a Definition of Nanomaterial*. LU: Publications Office, 2019. <https://data.europa.eu/doi/10.2760/053982>.
- Charles, Sandrine, Stéphane Jomini, Valérie Fessard, Emilie Bigorgne-Vizade, Christophe Rousselle, et Cécile Michel. « Assessment of the *in Vitro* Genotoxicity of TiO₂ Nanoparticles in a Regulatory Context ». *Nanotoxicology* 12, n° 4 (21 avril 2018): 357-74. <https://doi.org/10.1080/17435390.2018.1451567>.
- Di Cristo, Luisana, Gemma Janer, Susan Dekkers, Matthew Boyles, Anna Giusti, Johannes G. Keller, Wendel Wohlleben, et al. « Integrated Approaches to Testing and Assessment for Grouping Nanomaterials Following Dermal Exposure ». *Nanotoxicology* 16, n° 3 (16 mars 2022): 310-32. <https://doi.org/10.1080/17435390.2022.2085207>.
- Di Cristo, Luisana, Agnes G. Oomen, Susan Dekkers, Colin Moore, Walter Rocchia, Fiona Murphy, Helinor J. Johnston, et al. « Grouping Hypotheses and an Integrated Approach to Testing and Assessment of Nanomaterials Following Oral Ingestion ». *Nanomaterials* 11, n° 10 (7 octobre 2021): 2623. <https://doi.org/10.3390/nano11102623>.
- Dianová, Lucia, Filip Tirpák, Marko Halo, Tomáš Slanina, Martin Massányi, Robert Stawarz, Grzegorz Formicki, Roberto Madeddu, et Peter Massányi. « Effects of Selected Metal Nanoparticles (Ag, ZnO, TiO₂) on the Structure and Function of Reproductive Organs ». *Toxics* 10, n° 8 (8 août 2022): 459. <https://doi.org/10.3390/toxics10080459>.
- European Chemicals Agency. *Appendix for Nanoforms Applicable to the Guidance on QSARs and Grouping of Chemicals: Guidance on Information Requirements and Chemical Safety Assessment*. LU: Publications Office, 2019. <https://data.europa.eu/doi/10.2823/273911>.

- European Chemicals Agency. *Appendix for Nanoforms to the Guidance on Registration and the Guidance on Substance Identification: Version 2.0 January 2022*. LU: Publications Office, 2022. <https://data.europa.eu/doi/10.2823/40>.
- Kirkland, David, Marilyn J. Aardema, Rüdiger V. Battersby, Carol Beevers, Karin Burnett, Arne Burzlaff, Andreas Czich, et al. « A Weight of Evidence Review of the Genotoxicity of Titanium Dioxide (TiO₂) ». *Regulatory Toxicology and Pharmacology* 136 (décembre 2022): 105263. <https://doi.org/10.1016/j.yrtph.2022.105263>.
- OECD. 2018. « CASE STUDY ON GROUPING AND READ-ACROSS FOR NANOMATERIALS — GENOTOXICITY OF NANO-TIO₂ ».
- Rolo, Dora, Ricardo Assunção, Célia Ventura, Paula Alvito, Lídia Gonçalves, Carla Martins, Ana Bettencourt, et al. « Adverse Outcome Pathways Associated with the Ingestion of Titanium Dioxide Nanoparticles—A Systematic Review ». *Nanomaterials* 12, n° 19 (21 septembre 2022): 3275. <https://doi.org/10.3390/nano12193275>.
- SCCS. « GUIDANCE ON THE SAFETY ASSESSMENT OF NANOMATERIALS IN COSMETICS 2nd revision », (SCCS/1655/23), 6 juin 2023.
- SCCS. « Scientific Advice on Titanium dioxide (TiO₂) (CAS/EC numbers 13463-67-7/236-675-5, 1317-700/215-280-1, 1317-80-2/215-282-2) », (SCCS/1661/23), 13 mai 2024.
- SCCS. « THE SCCS NOTES OF GUIDANCE FOR THE TESTING OF COSMETIC INGREDIENTS AND THEIR SAFETY EVALUATION 12TH REVISION », (SCCS/1647/22), 15 mai 2023.
- Wang, Ruolan, Bin Song, Junrong Wu, Yanli Zhang, Aijie Chen, et Longquan Shao. 2018. « Potential adverse effects of nanoparticles on the reproductive system ». *International Journal of Nanomedicine* Volume 13 (décembre) : 8487-8506. <https://doi.org/10.2147/IJN.S170723>.

CITATION SUGGÉRÉE

Anses. (2024). Note d'AST relatif à l'analyse des données fournies dans le cadre de l'évaluation du dioxyde de titane (TiO₂) dans les produits cosmétiques. (saisine 2024-AST-0114). Maisons-Alfort : Anses, 2024, 21 p.

ANNEXE 1 : ANSES COMMENTS ON SCCS SCIENTIFIC ADVICE ON TITANIUM DIOXIDE

29/01/2024

3.1. Chemical and physical specifications

3.1.4 Purity, composition and substance codes

It is noted that *“it is not possible to know whether aluminium is present as Al₂O₃ or Al(OH)₃ or similarly if the analysed elemental silicon is related to silica, silicones or silanes. Only an approximation can be made based on the manufacturing process.”* (on page 14 line 34 - 6)

For Anses, it is possible to identify the nature of impurities even at trace levels. Applicants should argue why it is challenging to distinguish impurities and specify if they used a combination of analytical techniques.

Table 3.1.4.A1: Pigmentary grades – categories by composition

It would be useful to add a column specifying the crystallinity of the grades considered.

Table 3.1.9.2: Particle size and distribution

According to TEM results for constituent particles sizes, % of nano is higher than 50 for some pigmentary grades of TiO₂, considering at least one TEM data. Specifically, according to table 3.1.9.1.A2 in Annex L, several grades (RM26, RM27, RM67, RM70a, b, c) were reported with more than 50% of particles by number < 100 nm (determined by TEM). However, these raw materials were reported as pigmentary grades in paragraph 3.1.1.5.

Since TEM gives better resolution than SEM and allow to distinguish the primary particle boundaries, Anses considers as a conservative approach, that these grades (RM26, RM27, RM67, RM70a, b, c) should be considered as nanomaterials, even if other data provided (from SEM and/or TEM) gives a particle size distribution with less than 50% of particle <100 nm.

Table 3.1.9.3: Aerodynamic diameter

Anses questions the very low percentage (close to 0) of particles with an aerodynamic diameter below 10 µm, despite the spheroidal shape of pigmentary samples and certain nanograde samples (RM09, RM11, RM55, RM56, RM57, RM58, RM59, RM60, RM61, RM62, RM64, RM65, RM74a, RM74b, RM74c, RM74d, RM74e, RM78, RM81, and RM82). These results imply that none of these grades fulfil criteria for classification as Carc. 2 by inhalation.

The aerodynamic diameter is defined as the physical diameter of a sphere with a density equal to 1, moving through the air at the same velocity as the particle in question (such as titanium). This parameter determines the behavior of the particle suspended in the air. It is a function of the geometric diameter, shape factor, and the density of the aerosolized particle.

In general, for spheroid particles, the aerodynamic diameter is often close to the physical diameter. Regarding aerodynamic diameter results provided, Anses believes that, if nanoscale titanium samples with a spheroid shape contain less than 1% of particles with an aerodynamic diameter <10 µm, it is primarily due to the particle aerosolization system generating aggregated/agglomerated particles.

As this parameter is a key criteria for classification as Carc. 2 by inhalation, more information is needed regarding the measurement of aerodynamic diameter. Therefore, measurement results' must be accompanied by (i) the characteristics of the dustiness test and (ii) the number-based particle size distribution of aerosols generated during the dustiness test. Moreover, (iii) the aerosolization of the samples during the measurement of the aerodynamic diameter should be representative of the exposure resulting from titanium dioxide used in cosmetics.

Reference:

<https://echa.europa.eu/fr/information-on-chemicals/cl-inventory-database/-/discli/details/100661>

3.1.11 Dispersibility

It is noted that *“among the 40 nano titanium grades, 3 nano grades have been tested in toxicity studies: RM09, RM11 and RM75”*.

While genotoxicity results are provided with RM09 and RM11, it is not clear to what type of studies the SCCS refers to for RM75.

Moreover, the rationale behind the choice of these particular nano grades as representatives of the 40 ones declared with cosmetic uses should be made clearer in the SCCS opinion together with the fact that this rationale is not convincing enough to read-across to the remaining 37 grades.

3.4.1. 1. Mutagenicity / genotoxicity in vitro

Gene mutation assay with RM09

It is noted that a short-term treatment is considered inadequate for nanomaterials as cellular uptake of the test item needs to be demonstrated. However, Anses considers that it would have been relevant to perform a short exposure duration in addition to the 24h treatment (Charles & Jomini et al., 2018).

- Reference

Charles & Jomini et al., 2018. Assessment of the in vitro genotoxicity of TiO₂ nanoparticles in a regulatory context. *Nanotoxicology*. Volume 12 – issue 4.

<https://www.tandfonline.com/doi/full/10.1080/17435390.2018.1451567>

Extract: *Short exposure duration of few hours can allow detecting genotoxicity when the compound is easily absorbed by the cell or when DNA damage is due to oxidative stress. In contrast, longer exposure duration (≥ 24 h) may be necessary to adequately detect NPs genotoxicity in proliferating cells considering that NPs may need more time than other chemicals to penetrate cells and/or nuclei (Karlsson 2010). [...] In contrast, tests with long-exposure times may be less sensitive, as they allow the possibility of DNA repair mechanisms to occur.*

Moreover, it is stated that “the SCCS is of the opinion that cellular uptake of RM09 was convincingly demonstrated, however, at RM09 concentrations higher than those recommended by the OECD TG 490 (paragraph 29). According to the information on precipitation provided by the Applicant, the highest acceptable concentration tested should be 6.3 $\mu\text{g}/\text{mL}$ (Exp I) or 12.5 $\mu\text{g}/\text{mL}$ (Exp IA), and these concentrations were not tested for cellular uptake, i.e. the lowest concentration tested by the Applicant for uptake was 25 $\mu\text{g}/\text{mL}$.”

In addition, statement provided in Annex R for RM09 Gene Mutation Assay: *“most of the observed V79 cells showed agglomerates of RM09 nanoparticles. Only occasionally separated particles or single small agglomerates can be observed”* cannot be confirmed. Agglomerated particles present inside the cell is due, among other things, to sample preparation through chemical fixation and dehydration. Anses believes that to confirm or refute this statement, images from cryo-TEM need to be provided.

In these conditions (no short-term treatment and no data on cellular uptake at tested doses in the genotoxicity study), it is difficult to conclude firmly that the study is negative.

Gene mutation assay with RM11:

It is noted that the mutation frequency was sporadically statistically significantly increased in the 24-hour experiment without metabolic activation. Even if the results are reported as consistent with historical control and not dose related, they should have been considered as “equivocal” rather than “clearly negative”, according to OECD guideline 476 (“evaluation and interpretation of results”). In this case, further investigation (as repeat test using same conditions) could have been useful to reach firm conclusion.

The following statement provided in Annex R for RM11 Gene Mutation Assay *“Nevertheless, many cells show no obvious internalization of RM11 nanoparticles and many of the RM11 nanoparticle agglomerates can be observed outside the cells. The majority of the RM11 nanoparticles (inside and outside the cells) are present in agglomerated form. Only occasionally separated particles or single smaller agglomerates can be seen”* based on low resolution TEM micrographs, cannot be accurate. In fact, the low resolution TEM micrographs provided do not clearly distinguish the location of small isolated particles inside or outside the cell. Therefore, Anses believes that high resolution (corresponding to a resolution greater than or equal to the size of the smallest particles in the sample) images need to be provided.

Moreover, the SCCS concludes that cellular uptake was convincingly demonstrated at all concentrations, although applicant stated that obvious internalization of RM11 nanoparticles was not shown in many cells. Anses asks SCCS to provide more argumentations allowing its conclusion.

Finally, it is noted that *“according to the information on precipitation provided by the Applicant, the highest acceptable concentration tested should be 6.3 µg/mL (4 or 24 h of exposure), and these concentrations were not tested for cellular uptake, i.e. the lowest concentration tested by the Applicant for uptake was 25 µg/mL”*. In these conditions, how can it be possible to conclude firmly that the study is negative?

This comment on the lack of demonstration of cellular uptake at concentrations tested in genotoxicity also applies to the micronucleus assay with RM11.

Micronucleus assay with RM09

Anses has the same comments concerning treatment duration and cellular uptake as for the gene mutation assay with RM09.

The SCCS notes that positive control cell cultures treated with griseofulvin showed mean micronucleus frequency which is below the minimal value of the historical control data. This result may raise some uncertainties on the sensibility of the test to detect mutagens of low potency (and thus on the negative conclusion of this test).

3.4.1.2. Mutagenicity / genotoxicity in vivo

Creutzenberg study (2022):

FR notes that this preliminary study was not performed in accordance with criteria/parameters set in the ECHA decision (within Reach Substance Evaluation process), in particular concerning the number of animals, the number of concentrations, the observation times and the Comet assay protocol. New data performed according to requirements of the Reach Substance Evaluation is expected in the next years.

3.4.1.3.2 Published literature search carried out by the SCCS

According to table on page 67: rutile coated (or rutile with up to 2% anatase) nano grades were considered as inclusion criteria. However, it is noted that nano grades used in cosmetics can contain up to 5% anatase. Please clarify.

An additional publication has been identified in the literature:

- Cao et al. Genotoxicity Evaluation of Titanium Dioxide Nanoparticles In Vivo and In Vitro: A Meta-Analysis. *Toxics*. 2023 Oct 27;11(11):882. doi: 10.3390/toxics11110882. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/37999534/>

Please consider if this publication is relevant for SCCS opinion.

4. Conclusion

Anses agrees with the SCCS that more experimental data is needed to conclude on safety of TiO₂ used in cosmetic products.

Anses recognizes the effort made to provide data on specific nanoforms regarding their genotoxicity. However, based on the above-mentioned limits, we are of the opinion that no firm conclusion can neither be made for RM09 nor RM11. In addition, there is no convincing rationale for considering them as representative of all cosmetic grades.

Regarding question 5 “does the SCCS have any further scientific concerns regarding the use of Titanium dioxide in cosmetic products?”, Anses notes that, in addition to genotoxic concerns, several alerts related to reproductive toxicity (male and female reproduction and development) have been found in the scientific literature with nano grades of TiO₂. Most of these studies are performed by oral route with anatase crystallinity and sizes ranging from 6 to 21 nm. No data are available with coated TiO₂ nor with rutile crystallinity.

Annexes 1, 2, 3:

Some information is lacking for some studies in particular in column “exposure conditions” (e.g. biological medium, FBS serum and statistics “other genotoxicity endpoints – H2AX” (Vignard et al., 2023)), “information on the characteristics of the test substance” and “results” (e.g. see Ferrante et al. 2013). Please check and complete.

ANNEXE 2 : RESUME ET ANALYSE CRITIQUE DES ARTICLES DECRIVANT UNE APPROCHE DE REGROUPEMENT DES NANOFORMES DEFINIE DANS LE PROJET EUROPEEN GRACIOUS

D'une manière générale, l'Anses considère que l'approche de regroupement, réalisée dans le cadre du programme européen GRACIOUS est utile pour prioriser les substances en vue de sélectionner celles dont la toxicité doit être analysée en première intention. Cette approche ne doit constituer qu'une étape préliminaire à l'analyse de la toxicité des substances, sans toutefois remplacer la génération d'études si elles sont jugées nécessaires.

L'Anses a analysé 3 articles, publiés entre 2020 et 2022 par la même équipe (V. Stone³¹, H. M. Braakhuis³², L. Di Cristo³³). Ces articles proposent des hypothèses de regroupement des nanoformes après exposition par voie inhalée, orale et cutanée, afin de faciliter l'évaluation des risques.

Ces regroupements se font selon des hypothèses détaillées par des approches intégrées de tests et d'évaluation (IATA³⁴). Le regroupement tient compte des caractéristiques physicochimiques des nanoformes (« what they are »), de la voie d'exposition, de la toxicocinétique (« where they go ») et du danger (« what they do »).

Les principales analyses et paramètres fournis par l'approche intégrée ainsi que l'analyse critique de l'Anses sont les suivants :

- I. L'approche intégrée se concentre sur la vitesse de dissolution des nanoformes. En fonction de leur dissolution dans les fluides biologiques correspondant à la voie d'exposition (fluide bronchoalvéolaire, fluide gastro-intestinal, sueur), les nanoformes peuvent être regroupées en plusieurs catégories : dissolution instantanée, rapide, graduelle ou très lente. La dissolution détermine si les nanoformes restent intactes ou se transforment en molécules / ions dissous et prédit la biopersistance.

Commentaire Anses :

L'Anses note que les articles définissent des catégories de dissolution en fonction des temps de demi-vie pour lesquelles des valeurs seuils sont proposées. Néanmoins, il n'existe pas de définition harmonisée pour la biopersistance. Par ailleurs, l'Anses se questionne sur le fait que la dissolution apparaisse comme point d'entrée à tout regroupement, même s'il est reconnu que ce paramètre influence le devenir des nanoformes et leur toxicité. De plus, l'Anses remarque que la solubilité des substances, qui doit être renseignée d'après le document guide du CSSC sur l'évaluation de la sécurité des nanomatériaux, n'est pas prise en compte pour l'analyse de la dissolution. L'Anses ajoute qu'il n'existe pas non plus de définition / norme harmonisée pour définir les seuils de solubilité ni de dissolution, ce qui rend difficile l'application de l'approche intégrée.

³¹ NanoSafety Research Group, Heriot Watt University, Edinburgh, United Kingdom.

³² Centre for Health Protection and Centre for Safety of Substances and Products, National Institute for Public Health and the Environment (RIVM), Bilthoven, The Netherlands.

³³ Nanoregulatory Platform, Drug Discovery and Development Department, Istituto Italiano Di Tecnologia, 16163 Genova, Italy.

³⁴ Integrated Approaches to Testing and Assessment

II. Les autres critères analysés dans les arbres de décision afin de guider les utilisateurs pour le regroupement comprennent :

- Les paramètres physico-chimiques

Certains paramètres physicochimiques, tels que la taille, l'agrégation et l'agglomération, sont analysés dans tous les cas, quelle que soit la voie d'exposition attendue. Néanmoins, d'autres paramètres sont ajoutés spécifiquement en fonction de leur pertinence pour la voie d'exposition considérée.

- Les paramètres de danger et la toxicocinétique

Les propriétés de danger de la nanoforme ainsi que son comportement dans le milieu dans lequel elle se trouve (par exemple, réactivité de surface et dispersibilité en plus du taux de dissolution pris en compte au préalable) doit également être pris en compte pour soutenir le regroupement.

Les propriétés de danger à analyser diffèrent en fonction de leur pertinence pour la voie d'exposition considérée.

Ainsi, pour l'exposition par inhalation : la réactivité de surface et la production d'espèces réactives de l'oxygène (ROS), sont des paramètres clés. Le potentiel d'inflammation comprend l'analyse des marqueurs des réponses inflammatoires/pro-inflammatoires.

L'évaluation des dangers pour l'exposition par voie orale comprend les paramètres suivants : la réactivité, l'inflammation, la génotoxicité, la cytotoxicité, la toxicité systémique, le franchissement de la barrière.

Pour la voie cutanée, l'évaluation des dangers comprend l'irritation cutanée, la sensibilisation cutanée, la pénétration cutanée.

Commentaire Anses :

L'Anses note qu'il n'est pas proposé des critères de similarités physicochimiques pour définir les regroupements de nanomatériaux.

De plus, l'Anses observe que les interactions entre les particules et d'autres composants, tels que le revêtement de surface, ou avec d'autres substances présentes dans l'environnement pouvant induire une synergie ou des effets combinés ne sont pas analysés. Ces interactions peuvent cependant modifier les propriétés et la réactivité des nanomatériaux voire renforcer leur toxicité.

Pour les paramètres de danger à analyser pour proposer des regroupements, l'Anses note qu'il n'est pas proposé non plus des critères de similarité.

L'Anses note que le potentiel génotoxique n'est pas un paramètre proposé dans l'approche intégrée par inhalation (contrairement aux publications relatives aux voies cutanée et orale) pour déterminer les regroupements. De même, la toxicité systémique n'est pas décrite et seules les espèces réactives à l'oxygène sont évaluées alors que d'autres espèces réactives (telles que les espèces réactives à l'azote RNS) sont également impliquées dans le stress oxydatif.

ANNEXE 3 : SUIVI DES ACTUALISATIONS DE L'AVIS

Date	Page	Description de la modification
27/09/2024	5	<i>Rectification de la référence bibliographique erronée suivante « Selon l'annexe K de l'avis du CSSC de 2023 (SCCS/1655/23) ». La référence corrigée est « Selon l'annexe L de l'avis du CSSC de 2023 (SCCS/1661/23) »</i>