

**Saisine 2009BCT0063**

**Evaluation du risque lié à l'utilisation  
du musc xylène et du musc cétone  
dans les produits cosmétiques**

## SOMMAIRE

<b>1. CONTEXTE</b> .....	<b>2</b>
<b>2. CARACTERISATION PHYSICO-CHIMIQUE</b> .....	<b>3</b>
<b>3. CARACTERISATION DU DANGER</b> .....	<b>4</b>
3.1. TOXICOCINETIQUE.....	4
3.2. GENOTOXICITE ET CANCEROGENESE.....	6
3.2.1. Avis du SCHER (2006).....	6
3.2.2. Avis du CSSC de 2004 (SCCNFP/0817/04).....	6
3.2.3. Monographie du CIRC (1997).....	7
3.2.4. Conclusion sur le potentiel génotoxique et cancérigène.....	7
3.3. PERTURBATION ENDOCRINIENNE.....	8
3.4. REPROTOXICITE.....	9
3.4.1. Musc cétone.....	9
3.4.2. Musc xylène.....	10
3.5. CONCLUSION SUR LE DANGER.....	11
<b>4. EXPOSITION ET EVALUATION DU RISQUE</b> .....	<b>12</b>
<b>5. CONCLUSION</b> .....	<b>14</b>
<b>6. REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES</b> .....	<b>15</b>

## LISTE DES TABLEAUX

TABLEAU 1 : CARACTERISATION PHYSICO-CHIMIQUE DU MUSC XYLENE.....	3
TABLEAU 2 : CARACTERISATION PHYSICO-CHIMIQUE DU MUSC CETONE.....	3
TABLEAU 3 : QUANTITES DE MUSC CETONE ET MUSC XYLENE RADIOMARQUES <sup>14</sup> C APRES APPLICATION TOPIQUE SUR LE DOS DE VOLONTAIRES (D'APRES HAWKINS ET AL., 2002).....	4
TABLEAU 4 : QUANTITES DE MUSC CETONE RADIOMARQUE <sup>14</sup> C APRES APPLICATION TOPIQUE DE 0,5 MG/KG PC. CHEZ LE RAT MALE (D'APRES HAWKINS ET AL., 1999).....	4
TABLEAU 5 : QUANTITES DE MUSC XYLENE RADIOMARQUE <sup>14</sup> C APRES APPLICATION TOPIQUE DE 0,5 MG/KG PC. CHEZ LE RAT MALE (D'APRES HAWKINS ET AL., 1999).....	5
TABLEAU 6 : RESULTATS DE L'ANALYSE DE 11 COMPOSES SYNTHETIQUES DANS LE SANG DE LA POPULATION DE L'ETUDE (D'APRES HUTTER ET AL., 2009).....	5
TABLEAU 7 : RESULTATS DE L'ETUDE DE CANCEROGENESE CHEZ LA SOURIS B6C3F1 (D'APRES MAEKAWA ET AL., 1990).....	6
TABLEAU 8 : RESULTATS D'INDUCTION DU CYP CHEZ LA SOURIS B6C3F1.....	7
TABLEAU 9 : CALCUL DE L'EXPOSITION DU MUSC XYLENE DANS LES PRODUITS COSMETIQUES.....	12
TABLEAU 10 : CALCUL DE L'EXPOSITION DU MUSC CETONE DANS LES PRODUITS COSMETIQUES (D'APRES SCCNFP, 2004).....	12

## LISTE DES FIGURES

FIGURE 1 : RESULTATS DE LA PROLIFERATION CELLULAIRE DES CELLULES MCF-7 POUR LES MUSCS XYLENE ET CETONE ET LEURS METABOLITES (D'APRES BITSCH ET AL., 2002).....	9
--	---

# 1. Contexte

Par lettre du 21 janvier 2009, Madame la Ministre de la Santé, de la Jeunesse et des Sports et de la Vie Associative a saisi l'Ansm sur la part du risque attribuable aux ingrédients cosmétiques reprotoxiques et/ou perturbateurs endocriniens. Cette saisine s'inscrit dans le cadre du plan d'action « fertilité » du gouvernement. Les autres agences sanitaires ont aussi été saisies, chacune dans son domaine de compétence.

Dans ce contexte, l'Ansm a identifié plusieurs substances reprotoxiques et/ou perturbatrices endocriniennes, dont les muscs xylène et cétone (muscs nitrés).

Les muscs xylène et cétone sont inscrits à l'annexe III de la directive cosmétique 76/768/CEE respectivement aux entrées 96 et 97. Ils peuvent être utilisés dans tous les produits cosmétiques (à l'exception des produits d'hygiène buccale) et ce, avec certaines restrictions de concentration :

- pour le musc xylène : 1 % dans les parfums fins ; 0,4 % dans les eaux de toilette et 0,03 % dans les autres produits;
- pour le musc cétone : 1,4 % dans les parfums fins ; 0,56 % dans les eaux de toilette et 0,042 % dans les autres produits.

Selon le règlement (CE) n° 1272/2008 relatif à la classification, à l'étiquetage et à l'emballage des substances, le musc xylène est classé cancérigène de catégorie 2 (anciennement catégorie 3), c'est-à-dire comme une substance suspectée d'être cancérigène pour l'Homme.

Par ailleurs, L'IFRA (International Fragrance Association) recommande de ne pas utiliser le musc xylène dans les parfums en raison de sa toxicité et de sa persistance dans l'environnement (« vPvB » : « very Persistent, very Bioaccumulative » défini dans le règlement REACH). Concernant le musc cétone, l'IFRA recommande de ne l'utiliser que s'il contient, en tant qu'impureté, moins de 0,1% de musc xylène.

Les muscs sont suspectés de propriétés de perturbation endocrinienne de catégorie 2 dans le rapport DHI (2007) en raison d'un essai *in vitro* positif de prolifération cellulaire sur cellules MCF-7 (Bitsch *et al.*, 2002).

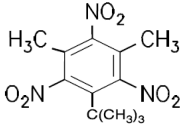
Le présent rapport est fondé sur l'avis du Comité scientifique pour la santé des consommateurs de 2004 (CSSC, SCCNFP/0817/04), de l'avis du Comité scientifique sur les risques sanitaires et environnementaux (SCHER, 2006 ; « Scientific committee on health and environmental risks ») et d'une revue de la littérature scientifique. Par ailleurs, un avis relatif au musc cétone (SCCNFP/0162/99) et un autre relatif au musc xylène (SCCNFP/0163/99) ont été émis par le CSSC en 1999, dont seules les études de reprotoxicité (téatogenèse et études péri- et postnatales) seront détaillées dans le présent rapport.

Il est à noter que le dernier avis du CSSC de 2004 (SCCNFP/0817/04) ne reprend pas les données des avis de 1999 et ne se focalise que sur les potentiels effets de cancérogenèse de ces deux muscs. Enfin quelques données du Centre international de recherche sur le cancer (CIRC, 1997), notamment des données de génotoxicité et de cancérogenèse ont été intégrées au présent rapport.

## 2. Caractérisation physico-chimique

Les tableaux 1 et 2 présentent les caractéristiques physico-chimiques des muscs xylène et cétone, respectivement.

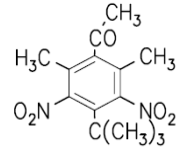
**Tableau 1 : Caractérisation physico-chimique du musc xylène**

Nom INCI	Musk xylène
Numéro CAS	81-15-2
Numéro EINECS/ELINCS	201-329-4
Nom Chemical/IUPAC ou autre	1-tert-butyl-3,5-dimethyl-2,4,6-trinitrobenzene 1-(1,1-diméthylethyl)-3,5-diméthyl-2,4,6-trinitrobenzene 5-tert-butyl-2,4,6-trinitroxylène
Fonctions	1 % dans les parfums fins ; 0,4 % dans les eaux de toilette et 0,03 % dans les autres produits
Structure	

### Propriétés physico-chimiques :

Forme : poudre cristalline ;  
Poids moléculaire : 297,27 g/mol ;  
Solubilité : insoluble dans l'eau ;  
Point de fusion : 114°C.

**Tableau 2 : Caractérisation physico-chimique du musc cétone**

Nom INCI	Musk ketone
Numéro CAS	81-15-1
Numéro EINECS/ELINCS	201-328-9
Nom Chemical/IUPAC ou autre	4-tert-butyl-3,5-dinitro-2,6-diméthylacetophénone 3,5-Dinitro-2,6-diméthyl-4-tert-butylacetophénone Ethanone, 1-[4-(1,1-diméthylethyl)-2,6-diméthyl-3,5-dinitrophenyl]
Fonctions	1,4 % dans les parfums fins ; 0,56 % dans les eaux de toilette et 0,042 % dans les autres produits
Structure	

### Propriétés physico-chimiques :

Forme : poudre cristalline ;  
Poids moléculaire : 294,3 g/mol ;  
Solubilité : insoluble dans l'eau ;  
Point de fusion : 137°C.

## 3. Caractérisation du danger

### 3.1. TOXICOCINETIQUE

L'absorption, la distribution et l'excrétion des muscs xylène et cétone ont été étudiées chez le rat (Hawkins *et al.*, 1999) et chez l'Homme (Hawkins *et al.*, 2002).

Selon Hawkins *et al.* (2002), les muscs xylène et cétone seraient absorbés à 0,3 et 0,5 % à travers la peau humaine (tableau 3). Dans cette étude, des volontaires sains ont été exposés aux muscs cétone et xylène (radiomarqués). Les doses ont été appliquées sur une surface de 100 cm<sup>2</sup> à une dose de 10 µg/cm<sup>2</sup> pour le musc xylène et de 20 µg/cm<sup>2</sup> pour le musc cétone pendant 6 heures. Les quantités excrétées dans les urines et les fèces ont été mesurées durant 5 jours.

**Tableau 3 : Quantités de musc cétone et musc xylène radiomarqués <sup>14</sup>C après application topique sur le dos de volontaires (d'après Hawkins *et al.*, 2002)**

	Musc cétone		Musc xylène	
	Sujet 1	Sujet 2	Sujet 1	Sujet 2
Rinçage à 6 heures (%)	66,8	75,7	33,2	60,8
Compresse de gaze (%)	19,3	10,8	56,8	33,7
Urine (0-120 h) (%)	0,49	0,34	0,20	0,33
Fèces (0-120 h) (%)	0,02	0,09	<0,1	<0,1
Total retrouvé (%)	86,6	86,9	90,2	94,8

Dans l'étude de Hawkins *et al.* (1999), des rats ont été exposés pendant 6 heures à des doses de muscs cétone et xylène (radiomarqués) de l'ordre de 10 µg/cm<sup>2</sup>. Les résultats montrent que le taux d'absorption cutanée chez le rat serait égal à 31 % pour le musc cétone (tableau 4) et serait compris entre 1 et 9 % pour le musc xylène (tableau 5).

**Tableau 4 : Quantités de musc cétone radiomarqué <sup>14</sup>C après application topique de 0,5 mg/kg pc. chez le rat mâle (d'après Hawkins *et al.*, 1999)**

	Heures							
	1	3	6	8	24	48	96	120
Urine (%)	NC	NC	0,37	0,75*	3,73	5,97	7,93	8,47
Fèces (%)	NC	NC	0,01	0,15*	7,60	17,3	18,7	20,5
Carcasse et tissus (%)	2,3*	10,2*	17,7	18,4*	12,9	6,13	2,37	2,10
Total absorbé (%)	2,3	10,2	18,1	19,3	24,2	29,4	29,0	31,1
Peau traitée (%)	72,4*	66,8*	74,2	8,50*	3,30	2,47	2,63	3,63
Rinçage (%)	23,8*	18,3*	8,7	74,4*	76,7	69,3	71,2	68,7
Total retrouvé (%)	98,5	95,2	101	102	104	101	103	103

**Note :** les résultats correspondent à la moyenne obtenue chez 3 rats à chaque point excepté pour ceux marqués\* qui correspondent à la moyenne de 2 rats.  
NC : non collecté

**Tableau 5 : Quantités de musc xylène radiomarqué <sup>14</sup>C après application topique de 0,5 mg/kg pc. chez le rat mâle (d'après Hawkins *et al.*, 1999)**

	Heures							
	1	3	6	8	24	48	96	120
Urine (%)	NC	NC	0,08	0,15*	2,79	2,97	3,59	3,92
Fèces (%)	NC	NC	<0,01	<0,01*	4,59	13,3	17,3	14,8
Carcasse et tissus (%)	0,87*	3,76*	9,82	14,6*	10,5	2,15	0,47	0,36
Total absorbé (%)	0,87	3,76	9,90	14,7	17,8	18,5	21,4	19,1
Peau traitée (%)	81,4*	80,3*	58,0	8,41*	3,55	1,72	2,97	1,87
Rinçage (%)	14,2*	11,4*	23,3	70,2*	72,9	74,1	67,4	72,5
Total retrouvé (%)	96,4	95,4	91,2	93,3	94,3	94,2	91,8	93,4

**Note :** les résultats correspondent à la moyenne obtenue chez 3 rats à chaque point excepté pour ceux marqués\* qui correspondent à la moyenne de 2 rats.

NC : non collecté

En comparant ces deux études (rat et Homme), l'absorption cutanée des muscs serait 20 à 100 fois plus faible chez l'Homme que chez le rat, ce qui conduit à des expositions systémiques plus basses chez l'Homme (pour des doses d'exposition identiques Homme – rat).

Les muscs se retrouvent dans les tissus graisseux ainsi que dans le lait maternel. Des concentrations de musc cétone de 40 µg/kg de lait ont été retrouvées suite à une analyse de 391 échantillons de lait maternel humain (région de Bavière, Allemagne) (Liebl *et al.*, 1993 cité par Schmeiser *et al.*, 2001). Les publications récentes de Hutter *et al.* (2009 ; 2010) montrent que même s'il existe une diminution de l'utilisation des muscs dans les produits cosmétiques en Allemagne, des quantités de muscs cétone et xylène sont toujours retrouvées dans le sang (tableau 6).

**Tableau 6 : Résultats de l'analyse de 11 composés synthétiques dans le sang de la population de l'étude (d'après Hutter *et al.*, 2009)**

	Nombre d'échantillons < LOD	Nombre d'échantillons > LOD et < LOQ	Nombre d'échantillons > LOQ	Concentration maximale (ng.L <sup>-1</sup> )
Musc cétone	83	13	4	67
Musc xylène	21	34	45	60

LOD : limit of detection (limite de detection) ; LOQ : limit of quantification (limite de quantification)

Concernant le métabolisme, aucune des études disponibles ne permet de définir quelle voie métabolique intervient dans la métabolisation des muscs. Cependant, il est suggéré par Hawkins *et al.* (1999) une implication des enzymes de phase I.

A partir d'un essai réalisé sur des volontaires sains, la demi-vie d'élimination du musc xylène a été estimée entre 63 et 107 jours (Kokot-helbling *et al.*, 1995 cité par l'IARC, 1997). Cette information nécessite d'être vérifiée, car les données présentées ci-dessus ne vont pas dans le sens d'une demi-vie si longue.

**Remarque :**

Le CSSC (SCCNFP/0817/04) a retenu l'étude de Hawkins *et al.* (2002) concernant les taux d'absorption cutanée des muscs. Cependant il retient pour son évaluation une absorption cutanée de 10 % pour le musc xylène et 14% pour le musc cétone, considérant que cela correspond aux quantités non retrouvées dans l'étude.

### 3.2. GENOTOXICITE ET CANCEROGENESE

#### 3.2.1. Avis du SCHER (2006)

Le SCHER a rendu un avis en 2006 sur la classification du musc cétone, quant à son potentiel cancérigène en se basant sur les études disponibles pour le musc xylène. Le musc xylène a été administré quotidiennement pendant 80 jours à des souris B6C3F1 *via* l'aliment à des concentrations de 0, 91, 170 mg/kg pc./j. pour les souris mâles et de 0, 101 et 192 mg/kg pc./j. pour les souris femelles (Maekawa *et al.*, 1990). Les résultats montrent la présence d'adénomes et de carcinomes hépatocellulaires (tableau 7).

**Tableau 7 : Résultats de l'étude de cancérogenèse chez la souris B6C3F1 (d'après Maekawa *et al.*, 1990)**

	Mâles			Femelles		
Dose de musc xylène (en mg/kg pc./j.)	0	91	170	0	101	192
Nombre d'animaux examinés	49	50	47	46	50	49
<b>Nombre d'animaux avec des adénomes hépatocellulaires</b>	9	19	20	1	14	13
<b>Nombre d'animaux avec des carcinomes hépatocellulaires</b>	2	8	13	0	1	2

Des études mécanistiques ont montré que le musc xylène était capable d'induire l'expression des enzymes du métabolisme des xénobiotiques, notamment le cytochrome (CYP) P450 de la famille 2B. Cette induction enzymatique contribue à la formation de tumeurs hépatiques chez les rongeurs. Ces effets peuvent être comparés à ceux observés avec le phénobarbital (PB) qui provoque la formation de tumeurs hépatiques chez les rongeurs *via* un mécanisme non génotoxique (promotion tumorale). Toutefois la formation de tumeurs hépatiques suite à l'administration de PB ne se produit pas chez l'Homme aux doses thérapeutiques. Le SCHER s'est basé sur la comparaison du musc xylène pour classer le musc cétone (propriétés physico-chimiques proches, induction enzymatique comparable à celle observée avec le PB) et considère ainsi les muscs xylène et cétone comme des substances cancérigènes de catégorie 2 (anciennement 3).

Remarque :

Le SCHER cite une publication de Lehman-McKeeman *et al.* (1999) dans laquelle le musc cétone serait capable d'induire l'activité des CYP1A1 et CYP1A2 chez des rats F344 exposés par voie orale pendant 7 jours (les doses étaient de 0, 20, 100 or 200 mg/kg pc./j.).

#### 3.2.2. Avis du CSSC de 2004 (SCCNFP/0817/04)

Le CSSC (SCCNFP/0817/04) a évalué en 2004, le risque lié à l'utilisation des muscs cétone et xylène dans les produits cosmétiques, avec l'approche d'une part de la marge de sécurité et d'autre part fondée sur la T25<sup>1</sup>.

Pour l'évaluation du risque, le CSSC a utilisé l'étude de Lehmann-Mckeeman *et al.* (1997) dans laquelle les auteurs décrivent le mécanisme d'induction et d'inhibition du CYP450 2B pour le musc

<sup>1</sup> T25 : dose moyenne d'une substance cancérigène qui produirait une augmentation de 25 % de l'incidence des tumeurs chez des animaux exposés pendant leur vie entière (par rapport à des animaux non exposés).

xylène (tableau 8). Dans cette étude, les souris B6C3F1 ont été exposées par gavage pendant 7 jours.

**Tableau 8 : Résultats d'induction du CYP chez la souris B6C3F1 (d'après Lehmann-Mckeeman *et al.*, 1997)**

Dose (mg/kg pc./j.)	Poids du foie (g)	Ratio Poids du foie/Poids corporel (%)	Miscrosomes	Total Cytochrome P-450 (nmol/mg protéine)
0	0,95 ± 0,03	3,85 ± 0,06	7,00 ± 0,41	1,09 ± 0,04
1	0,94 ± 0,05	3,90 ± 0,07	7,54 ± 0,53	1,01 ± 0,05
5	1,05 ± 0,03	4,06 ± 0,15	7,55 ± 0,49	1,12 ± 0,07
10	1,06 ± 0,05	4,47 ± 0,23	6,76 ± 0,56	1,11 ± 0,13
20	1,12 ± 0,07	4,38 ± 0,15	8,70 ± 0,51	1,56 ± 0,11
50	1,26 ± 0,08	4,81 ± 0,18	10,10 ± 0,48	1,88 ± 0,14
100	1,28 ± 0,04	5,13 ± 0,14	14,37 ± 1,11	2,16 ± 0,14
200	1,57 ± 0,04	6,35 ± 0,14	17,05 ± 3,06	2,24 ± 0,23

Note : (a) ratio poids du foie sur poids corporel, avec le poids du foie exprimé en pourcentage du poids corporel.

Ainsi à partir du tableau 8, le CSSC utilise une NOAEL de 10 mg/kg pc./j. comme dose critique. Considérant une dose d'exposition de 223,9 µg/kg pc./j. avec un taux d'absorption cutanée de 10 %, la marge de sécurité (MoS) est de 455 pour le musc xylène.

Pour le musc cétone, la dose critique est établie à partir de la même étude, soit une NOAEL de 10 mg/kg pc./j. avec une exposition estimée à 217,5 µg/kg pc./j., et un taux d'absorption cutanée de 14 %, la (MoS) est de 333.

Pour l'évaluation du risque fondée sur la T25, le CSSC a calculé un excès de risque de cancer vie entière basé sur l'étude de cancérogenèse précédemment citée (tableau 7 ; Maekawa *et al.*, 1990). Il estime un excès de risque de cancer vie entière de  $3 \times 10^{-4}$  associé à une exposition de 22 µg/kg pc./j. de musc xylène. De la même manière, le CSSC obtient un excès de risque de  $4 \times 10^{-4}$  associé à une exposition de 30 µg/kg pc./j. de musc cétone. Le CSSC estime cet excès de risque comme acceptable.

Quelle que soit l'approche utilisée pour l'évaluation de risque (MoS ou T25), le CSSC a conclu que le musc xylène avec une concentration de moins de 1 % dans les parfums, de 0,4 % dans les eaux de toilettes et de 0,03 % dans les produits cosmétiques (hors produits d'hygiène buccale) ne présente pas de risque pour la santé des consommateurs.

De la même manière, le musc cétone avec une concentration de moins de 1,4 % dans les parfums, de 0,56 % dans les eaux de toilettes, et de 0,042 % dans les produits cosmétiques (hors produits d'hygiène buccale) ne présente pas de risque pour la santé des consommateurs.

### 3.2.3. Monographie du CIRC (1997)

Le CIRC (1997) a évalué le potentiel génotoxique et cancérogène du musc xylène. A partir des mêmes études précédemment décrites, le CIRC conclut que le musc xylène n'est pas génotoxique *in vitro* (test d'Ames, test de cytogénétique sur CHO et test UDS), ni *in vivo* (test UDS sur hépatocytes de rats).

Le CIRC estime que le musc xylène est un inducteur enzymatique (type PB) des CYP450 chez le rat et la souris.

Enfin, le CIRC conclut que le musc xylène ne peut être classé comme cancérogène chez l'Homme. Il est donc inclus dans le groupe 3 (agent inclassable quant à son potentiel cancérogène pour l'Homme).

### 3.2.4. Conclusion sur le potentiel génotoxique et cancérogène

De nombreux rapports ont conclu que les muscs xylène et cétone n'étaient pas des composés génotoxiques et l'Union européenne reprend ces conclusions (EU 2003a et b).

Concernant le mécanisme de cancérogenèse, il est généralement admis que l'apparition de tumeurs hépatiques chez les rongeurs suite à l'exposition par voie orale de musc xylène, serait la conséquence



d'une induction enzymatique (CYP450 2B). Ce mode d'action est comparable à celui du PB (« phenobarbital like inducer ») qui provoque la formation de tumeurs hépatiques chez les rongeurs *via* des mécanismes non génotoxiques.

Néanmoins, le risque d'augmentation de tumeurs hépatiques aux doses d'exposition est peu probable chez l'Homme. Selon le CIRC (2001), aucun lien n'a été constaté entre l'apparition de cancer hépatique et le traitement de patients par du PB pendant des années à des doses produisant des concentrations plasmatiques semblables à celles induisant la formation de tumeurs hépatiques chez les rongeurs.

De plus, l'étude de Maekawa *et al.* (1990) a montré que l'exposition au musc xylène induisait la formation d'adénomes et de carcinomes de la glande de Harder (cette glande se situe dans l'orbite oculaire), uniquement chez les souris mâles. Cependant, cet effet n'a pas été retenu comme effet pertinent à considérer chez l'Homme, puisque les glandes de Harder chez la souris n'ont pas d'équivalent chez l'Homme.

### 3.3. PERTURBATION ENDOCRINIENNE

Plusieurs articles ont été publiés sur le potentiel perturbateur endocrinien du musc xylène et du musc cétone, la plupart de ces articles concernent l'impact de la présence de ces substances sur l'environnement et n'ont pas été repris dans le présent rapport.

L'étude de Bitsch *et al.* (2002) a montré que le musc xylène (et son métabolite le 4-aminomusc xylène) et le musc cétone avaient une activité oestrogénique *in vitro* (test *E-screen*).

Les auteurs ont utilisé un système cellulaire permettant de détecter une activité oestrogénique à partir de cellules MCF-7 (cellules de carcinome mammaire humain) exprimant le récepteur à l'oestrogène (ER) (les sous type de récepteurs, ER $\alpha$  et ER $\beta$ , n'ont pas été précisés). Le test consiste à mesurer la prolifération cellulaire induite par une substance par rapport à un témoin négatif. Plusieurs paramètres sont alors calculés et comparés à la réponse induite par le 17 $\beta$ -œstradiol (substance de référence) :

- l'effet prolifératif : ratio du nombre de cellules de la substance test ou du contrôle positif / nombre de cellules du contrôle négatif ;
- l'effet prolifératif relatif : ce paramètre permet la comparaison de la prolifération cellulaire maximale observée de la substance test avec le 17 $\beta$ -œstradiol. Il permet de distinguer entre faible et fort agoniste du récepteur à l'oestrogène ;
- la puissance proliférative relative : permet de mesurer la puissance et l'efficacité par rapport au 17 beta œstradiol.

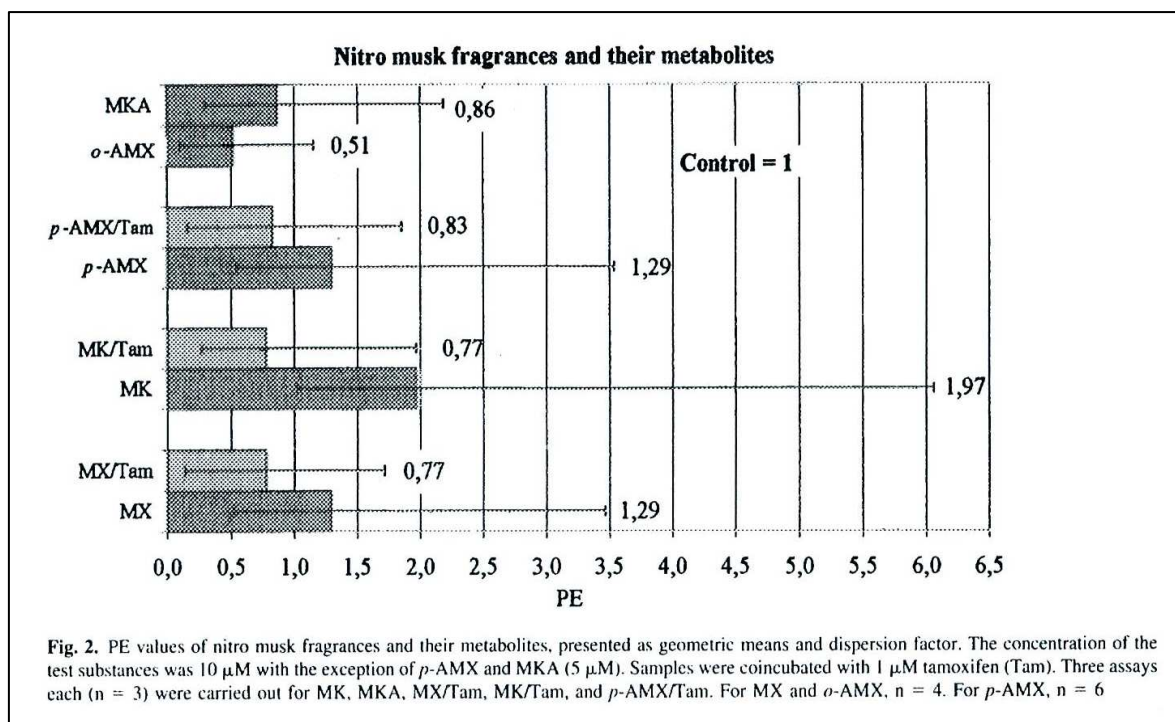
Les auteurs ont pu montrer que le musc xylène, son métabolite le 4-aminomusc xylène et le musc cétone provoquaient une prolifération cellulaire. La co-incubation avec le tamoxifène (substance anti-oestrogénique) a empêché cet effet, ce qui a permis de montrer que cette prolifération était liée au récepteur à l'oestrogène.

Cependant, les auteurs soulignent que le potentiel oestrogénique des muscs xylène et cétone, est faible par comparaison au 17 $\beta$ -œstradiol. Les autres métabolites tels que le 2-aminomusc xylène et le 2-aminomusc cétone n'ont pas montré d'effet sur la prolifération cellulaire.

#### Commentaire :

Le nombre de réplicats dans cette étude est de 3. Ni les écart-types, ni le coefficient de variation ne sont renseignés, seule une figure de l'article (figure 1, ci dessous) permet d'apprécier la distribution des données. D'après cette figure, il ressort qu'aucune augmentation de prolifération cellulaire liée à l'exposition aux muscs xylène, cétone et au 4-aminomusc xylène n'est significative par rapport aux cellules co-incubées avec le tamoxifène.

**Figure 1 : Résultats de la prolifération cellulaire des cellules MCF-7 pour les muscs xylène et cétone et leurs métabolites (d'après Bitsch *et al.*, 2002)**



Gomez *et al.* (2005) ont étudié le potentiel perturbateur endocrinien de plusieurs substances contenues dans les produits cosmétiques, notamment du musc cétone par un test d'activation transcriptionnelle faisant intervenir les récepteurs ER $\alpha$  et ER $\beta$ . Ce test se rapproche du test OCDE 455, qui est utilisé pour mettre en évidence la liaison d'un ligand à un récepteur oestrogénique. Une fois cette liaison établie, le complexe récepteur-ligand subit une translocation vers le noyau où il se fixe à certains éléments de réponse de l'ADN et transactive le gène rapporteur de la luciférase de luciole, induisant une augmentation de l'expression cellulaire de l'enzyme luciférase. La luciférine est un substrat transformé par l'enzyme luciférase en produit bioluminescent mesurable quantitativement par un luminomètre.

Les auteurs ont montré que le musc cétone n'a pas d'activité oestrogénique. Bien que le musc cétone provoque une induction du signal (25 % de transactivation avec le récepteur ER $\beta$ , à une concentration de 10<sup>-5</sup> M), cette activation a été jugée non spécifique car le musc cétone induisait le même type de réponse avec une lignée cellulaire n'exprimant pas les récepteurs aux œstrogènes.

### 3.4. REPROTOXICITE

#### 3.4.1. Musc cétone

Une étude de tératogenèse et une étude péri- et postnatale figurent dans l'avis du CSSC de 1999 (SCCNFP/0162/99). Elles seront ainsi détaillées ci-dessous.

#### ▪ Tératogenèse

Une étude préliminaire a d'abord été conduite afin de sélectionner les doses pour les études principales. Ainsi, le musc cétone a été administré à huit rats femelle Sprague Dawley par gavage du jour 7 (J7) de la gestation jusqu'à J17 à des doses de : 0, 60, 200, 600 et 2000 mg/kg pc./j. Les poids corporels des mères a été réduit de J8 à J18 pour tous les groupes traités. Par ailleurs, le poids corporel des fœtus des groupes traités à 200, 600 et 2000 mg/kg pc./j. a été diminué jusqu'à 20 % par rapport aux poids corporels des fœtus du groupe contrôle. Une mère traitée à 200 mg/kg pc./j., deux à 600 mg/kg pc./j. et deux à 2000 mg/kg pc./j. n'ont présenté que des nodules de résorption. Aucune

altération fœtale en relation avec le musc cétone n'a été cependant observée. Ainsi, les doses de 0, 15, 45 et 150 mg/kg pc./j. ont été sélectionnées dans l'étude principale pour laquelle le même protocole a été utilisé, mis à part le nombre d'animaux (25 femelles par groupe).

Dans l'étude principale, des fèces anormales (sèches) ont été observées pour le groupe traité à 45 mg/kg pc./j. Par ailleurs, le groupe traité à 150 mg/kg pc./j. a présenté : une salivation excessive, des signes de déshydratation et des tremblements. De plus, le gain de poids, les poids corporels et la consommation de nourriture ont été diminués pendant toute la période de gestation chez les groupes traités à 45 et à 150 mg/kg pc./j. Enfin, le groupe traité à 150 mg/kg pc./j. a présenté des pertes post-implantatoires et une diminution du poids corporel des fœtus.

Ainsi, la NOAEL maternelle est de 15 mg/kg pc./j. et la NOAEL de développement est de 45 mg/kg pc./j.

- **Etude péri- et postnatale**

Le musc cétone a été administré à des rat femelles (le nombre d'animaux n'est pas précisé) F0 à des doses de 0 ; 2,5 ; 7,5 et 25 mg/kg pc./j. par gavage de J14 de la gestation jusqu'à J21 postpartum. La génération F1 a été exposée au lait des mères contenant 20 900 ppb de musc cétone pendant 3 semaines (J21 postpartum). De cette génération F1, 24 mâles et 24 femelles ont été sélectionnés afin d'évaluer les modifications comportementales et la capacité de procréation. Les résultats ne montrent aucune incidence du traitement par le musc cétone jusqu'à 25 mg/kg pc./j. sur la capacité de procréation. Néanmoins, une diminution du gain de poids a été notée les deux premiers jours de gestation pour les femelles traitées à 25 mg/kg pc./j. Par ailleurs, le poids corporels des petits issus de ce dernier groupe a également été diminué par rapport au groupe contrôle, à la naissance et pendant l'allaitement et un retard de développement sans effet sur les performances reproductrices, a été observé. Enfin, une diminution du gain de poids des mâles F1 issus des femelles traitées à 7,5 mg/kg pc./j. a été constatée.

Ainsi, la NOAEL maternelle est de 7,5 mg/kg pc./j. et la NOAEL de développement est de 2,5 mg/kg pc./j.

### **3.4.2. Musc xylène**

Une étude de tératogenèse et une étude péri- et postnatale sont rapportées dans l'avis du CSSC de 1999 (SCCNFP/0163/99). Elles seront ainsi détaillées ci-dessous.

- **Tératogenèse**

Une étude préliminaire utilisant le même protocole et le même nombre d'animaux (huit) que dans l'étude du musc cétone, a été réalisée avec des doses de 0, 20, 60 et 200 mg/kg pc./j. Néanmoins, à la différence du musc cétone, aucune toxicité n'a été observée. Ainsi, les doses de 0, 20, 60 et 200 mg/kg pc./j. ont été sélectionnées dans l'étude principale pour laquelle le même protocole a été utilisé, mis à part le nombre d'animaux (25 femelles par groupe).

Dans l'étude principale, le gain de poids a diminué pour les groupes traités à 60 et 200 mg/kg pc./j. durant l'entière période de gestation. Par ailleurs, les poids corporels ont été réduits à J18 et J19 pour le groupe traité à 60 mg/kg pc./j. et entre J8 et J20 pour le groupe traité à 200 mg/kg pc./j. Les valeurs absolues et relatives de la consommation de l'aliment ont diminué au début du traitement pour le groupe traité à 60 mg/kg pc./j. et durant l'entière période de gestation pour le groupe traité à 200 mg/kg pc./j. Aucune anomalie en relation avec le traitement par le musc xylène n'a été observée chez les fœtus.

Ainsi, la NOAEL maternelle est de 20 mg/kg pc./j. et la NOAEL de développement est de 200 mg/kg pc./j.

- **Etude péri- et postnatale**

Le même protocole d'étude et les mêmes doses que ceux utilisés dans l'étude péri- et postnatale du musc cétone ont été utilisés pour le musc xylène. Par ailleurs, deux groupes de 15 femelles gestantes ont été traitées à des doses de 2,5 et 15 mg/kg pc./j. afin d'étudier la cinétique du musc xylène dans le lait maternel. Les échantillons ont été collectés à J15/16 ou à J20-24 postpartum. Excepté une légère

mais non significative baisse de gain de poids pour le groupe traité à 25 mg/kg pc./j., aucun effet n'a été observé chez les mères F0. Les petits issus des mères traitées à 25 mg/kg pc./j., ont présenté une réduction du poids corporel à J4 postpartum et pour les mâles cette diminution du poids corporel associée à une diminution du gain de poids ont persisté durant l'observation de génération F1. Aucun effet sur la maturation des paramètres sexuels, le comportement et la capacité de reproduction n'a été observé.

Ainsi, la NOAEL maternelle est de 7,5 mg/kg pc./j. et la NOAEL de développement est de 25 mg/kg pc./j. Néanmoins, au vu de la diminution de poids observé pour la génération F1 issu du groupe traité à 25 mg/kg pc./j., une NOAEL de développement de 7,5 mg/kg pc./j. aurait pu être retenue.

### **3.5. CONCLUSION SUR LE DANGER**

Une étude *in vitro* a montré que les muscs xylène et cétone pouvaient avoir une faible activité de perturbateur endocrinien, mais ceci reste à confirmer par une étude conforme aux exigences de l'OCDE telle que la ligne directrice OCDE 455.

Quelques publications relatives aux muscs polycycliques sont rapportées dans la littérature (Schreurs *et al.*, 2004 ; 2005 et Yamauchi *et al.*, 2008). Pour rappel, les muscs cétone et xylène sont des muscs nitrés. Ainsi, il serait judicieux de peut-être procéder à une lecture croisée des résultats obtenus à partir des muscs polycycliques afin de les extrapoler aux muscs xylène et cétone.

Concernant les effets hépatiques (induction enzymatique des CYP2B), une évaluation du risque a été réalisée par le CSSC (SCCNFP/0817/04) en 2004 sur la base de ces effets, en retenant une NOAEL de 10 mg/kg pc./j. sur la base d'une induction enzymatique.

Toutefois, il faut noter que le CSSC n'a pas repris les évaluations de 1999 (SCCNFP/0162/99 et SCCNFP/0163/99). Or dans ces avis, des NOAEL relatives à la reprotoxicité, plus faibles que celles utilisées pour les effets hépatiques ont été retenues. Ainsi, une NOAEL de développement de 2,5 mg/kg pc./j. a été retenue dans une étude péri- et postnatale pour le musc cétone et une NOAEL maternelle de 7,5 mg/kg pc./j. a été retenue dans une étude péri- et postnatale pour le musc xylène. Il convient d'interroger le CSSC sur la non prise en compte de cette étude dans son avis de 2004 et en particulier, le fait de ne pas retenir la NOAEL la plus faible pour l'évaluation du risque pour le consommateur.

## 4. Exposition et évaluation du risque

En réponse au courrier du 9 septembre 2010 envoyé aux représentants nationaux de l'Industrie cosmétique, il apparaît que le musc xylène n'est pas utilisé. Le musc cétone est utilisé conformément aux dispositions de l'annexe III de la directive cosmétique 76/768/CEE : 1,4 % dans les parfums fins ; 0,56 % dans les eaux de toilette et 0,042 % dans les autres produits.

L'exposition au musc xylène chez l'adulte, a été calculée en prenant en compte un scénario d'utilisation de cette substance dans toutes les catégories de produits. Les quantités maximales d'utilisation des produits utilisées sont celles définies par le CSSC dans ses recommandations. Les valeurs d'exposition ont été calculées en considérant le poids d'un adulte de 60 kg. Le tableau 9 indique les quantités maximales d'utilisation dans les différentes catégories de produits et les valeurs d'exposition en découlant. Il a été réalisé la même demande pour le musc cétone (tableau 10).

**Tableau 9 : Calcul de l'exposition du musc xylène dans les produits cosmétiques (d'après SCCNFP, 2004)**

Type of cosmetic product	Application quantity in grams per application	Application frequency per day <sup>c</sup>	Retention factor <sup>d</sup> (%)	Fragrance compound in product <sup>e</sup> (%)	Musk xylene in fragrance compound <sup>f</sup> (%)	Musk xylene in product (%)	Exposure to Musk xylene (mg/day)	Exposure to Musk xylene for 60 kg person (µg/kg/day)
Body lotion	8	1	100	0.4	7.1	0.028	2.27	37.9
Face cream <sup>a</sup>	0.8	2	100	0.3	7.1	0.021	0.34	5.7
Eau de toilette <sup>b</sup>	0.75	1	100	8.0	7.1	0.568	4.26	71.0
Fragrance cream	5	0.29	100	4.0	7.1	0.284	4.12	68.6
Anti-perspirant /deodorant	0.5	1	100	1.0	7.1	0.071	0.36	5.9
Shampoo	8	1	10	0.5	7.1	0.036	0.29	4.8
Bath products	17	0.29	1	2.0	7.1	0.142	0.07	1.2
Shower gel	5	2	10	1.2	7.1	0.085	0.85	14.2
Toilet soap	0.8	6	10	1.5	7.1	0.107	0.51	8.6
Hair spray	5	2	10	0.5	7.1	0.036	0.36	6.0
						<b>Total <sup>g</sup></b>		<b>223.9</b>

**Tableau 10 : Calcul de l'exposition du musc cétone dans les produits cosmétiques (d'après SCCNFP, 2004)**

Type of cosmetic product	Application quantity in grams per application	Application frequency per day <sup>c</sup>	Retention factor <sup>d</sup> (%)	Fragrance compound in product <sup>e</sup> (%)	Musk ketone in fragrance compound <sup>f</sup> (%)	Musk ketone in product (%)	Exposure to Musk ketone (mg/day)	Exposure to Musk ketone for 60 kg person (µg/kg/d)
Body lotion	8	1	100	0.4	6.9	0.028	2.21	36.8
Face cream <sup>a</sup>	0.8	2	100	0.3	6.9	0.021	0.33	5.5
Eau de toilette <sup>b</sup>	0.75	1	100	8.0	6.9	0.552	4.14	69.0
Fragrance cream	5	0.29	100	4.0	6.9	0.276	4.00	66.7
Anti-perspirant /deodorant	0.5	1	100	1.0	6.9	0.069	0.35	5.8
Shampoo	8	1	10	0.5	6.9	0.035	0.28	4.7
Bath products	17	0.29	1	2.0	6.9	0.138	0.07	1.1
Shower gel	5	2	10	1.2	6.9	0.083	0.83	13.8
Toilet soap	0.8	6	10	1.5	6.9	0.104	0.50	8.3
Hair spray	5	2	10	0.5	6.9	0.035	0.35	5.8
						<b>Total <sup>g</sup></b>	<b>12.03</b>	<b>217.5</b>

Le CSSC a retenue la NOAEL de 10 mg/kg pc./j. issue de l'étude de Lehmann-Mckeeman *et al.* (1997), dans laquelle les auteurs décrivent le mécanisme d'induction et d'inhibition du CYP450 2B

pour le musc xylène. Cette NOAEL est basée sur une toxicité hépatique (induction enzymatique chez la souris B6C3F1). Cette dose critique est associée à une exposition sur 7 jours. Les données fournies n'ont pas permis d'établir de benchmark dose (modélisation de la relation dose-réponse qui permet de définir une dose critique).

D'après le tableau des résultats, l'exposition maximaliste retenue pour les muscs xylène et cétone est de 223,9 µg/kg pc./j. et 217,5 µg/kg pc./j., respectivement. Ainsi, sur la base d'un taux d'absorption cutanée de 10 %, une dose systémique d'exposition (SED) de 22 µg/kg pc./j. peut être calculée pour le musc xylène et de 30 µg/kg pc./j. pour le musc cétone sur la base d'un taux d'absorption cutanée de 14 %.

Considérant une NOAEL de 10 mg/kg pc./j., les MoS peuvent être calculées de la façon suivante :  $MoS = NOAEL/SED$ . D'après les calculs, la MoS est de 455 pour le musc xylène et de 333 pour le musc cétone.

## 5. Conclusion

L'évaluation du risque, fondée d'une part sur l'induction enzymatique hépatique comme effet de toxicité pertinent permettant de retenir la NOAEL de 10 mg/kg pc./j. et d'autre part, sur une exposition déterminée à partir des scénarii d'exposition aux muscs cétone et xylène tels que décrits dans l'avis du CSSC, conclut à des MoS suffisantes. Toutefois, il convient de noter que le CSSC n'a pas repris les évaluations de 1999 (SCCNFP/0162/99 et SCCNFP/0163/99). Or dans ces évaluations, des NOAEL relatives à la reprotoxicité, plus faibles que celles utilisées pour les effets hépatiques ont été retenues. Ainsi, une NOAEL de développement de 2,5 mg/kg pc./j. a été retenue dans une étude péri- et postnatale pour le musc cétone. Concernant le musc xylène, une NOAEL maternelle de 7,5 mg/kg pc./j. a été retenue dans une étude péri- et postnatale également.

Dans les conditions actuelles d'utilisation, à la concentration admise, les MoS sont considérées comme suffisantes lorsque la NOAEL de 10 mg/kg pc./j. est retenue pour le calcul.

Selon l'avis du CSSC (SCCNFP/0817/04), le musc xylène peut être utilisé dans les produits cosmétiques (à l'exception des produits destinés à l'hygiène buccale) à des concentrations maximales de 1 % dans les parfums, 0,4 % dans les eaux de toilette et de 0,03% dans les autres produits. Le musc cétone, peut être utilisé dans les produits cosmétiques (à l'exception des produits destinés à l'hygiène buccale) à des concentrations (maximales dans le produits finis) de 1,4 % dans les parfums, 0,56 % dans les eaux de toilette et de 0,042 % dans les autres produits.

Enfin, selon les recommandations de l'IFRA (2010) en raison de son caractère vPvB dans l'environnement (vPvB, *very Persistent, very Bioaccumulative*, définies dans REACH), l'utilisation du musc xylène dans les parfums doit être interdite. D'après les réponses fournies par les représentants nationaux de l'Industrie cosmétique, le musc xylène n'est pas utilisé dans les produits cosmétiques. Néanmoins, ces réponses ne sont pas exhaustives. De ce fait, considérant la recommandation de l'IFRA, l'Ansm propose l'inscription du musc xylène dans les produits cosmétiques *via* son inscription à l'annexe II de la directive cosmétique.

Concernant le musc cétone, l'IFRA recommande de ne l'utiliser que s'il contient moins de 0,1% de musc xylène (comme impureté). Ainsi, il serait judicieux de reporter cette recommandation à l'annexe III de la directive cosmétique 76/768/CEE, entrée 97, réglementant le musc cétone. Concernant les NOAEL retenues pour la reprotoxicité et non retenues dans le calcul des MoS, l'Ansm propose de saisir la Commission européenne afin de clarifier cette question.

## 6. Références bibliographiques

Bitsch N., Dudas C., Körner W., Failing K., Biselli S., Rimkus G, *et al.* (2002). Estrogenic activity of musk fragrances detected by the E-screen assay using human MCF-7 cells. *Archives of Environmental Contamination and Toxicology*, 43:257-264.

Centre international de recherche sur le cancer (CIRC) (1997). Monographie Volume 65 : musc ambrette et musc xylène.

Centre international de recherche sur le cancer (CIRC) (2001). Monographie Volume 79 : phénobarbital.

Danish Hydraulic Institute (DHI). (2007). Study on enhancing the endocrine disrupter priority list with a focus on low production volume chemicals. En ligne :

[http://ec.europa.eu/environment/endocrine/documents/final\\_report\\_2007.pdf](http://ec.europa.eu/environment/endocrine/documents/final_report_2007.pdf)

EU (2003a). European union risk assessment report, musk ketone, cas no: 81-14-1, Luxembourg: office for official publications of the european communities.

EU (2003b). European union risk assessment report, musk xylene, cas no: 81-15-2,luxembourg: office for official publications of the european communities.

Gomez E., Pillon A., Fenet H., Rosain D., Duchesne M.J., Nicolas J.C., *et al.* (2005). Estrogenic activity of cosmetic components in reporter cell lines: parabens, UV screens, and musks. *Journal of Toxicology and Environmental Health, Part A* 68: 239-251.

Hawkins D.R., Ford R.A. (1999). Dermal absorption and disposition of musk ambrette, musk ketone and musk xylene in rats. *Toxicological Letters*, 111: 95-103.

Hawkins D.R., Elsom L.F., Kirkpatrick D., Ford R.A., Api A.M. (2002). Dermal absorption and disposition of musk ambrette, musk ketone and musk xylene in human subjects. *Toxicological Letters*, 1313: 147-151

Hutter H.P., Wallner P., Moshhammer H., Hartl W., Sattelberger R., Lorbeer G. *et al.* (2009). Synthetic musks in blood of healthy young adults: relationship to cosmetics use. *Science of the Total Environment*, 40717: 4821-4825.

Hutter H.P., Wallner P., Hartl W., Uhl M., Lorbeer G., *et al.* (2010). Higher blood concentrations of synthetic musks in women above fifty years than in younger women. *International Journal of Hygiene and Environmental Health*, 213: 124-30.

Lehmann-Mckeeman L.D., Johnson D.R., Caudill D. (1997). Induction and inhibition of mouse cytochrome P-450 2B enzymes by musk xylene. *Toxicology and Applied Pharmacology*, 142: 169-177.

Lehman-McKeeman L.D., Caudill D., Vassallo J.D., Pearce R.E., Madan A., *et al.* (1999). Effects of musk xylene and musk ketone on rat hepatic cytochrome P450 enzymes. *Toxicological Letters*, 111: 105-115.

Maekawa A., Matsushima Y., Onodera H., Shibutani M., Ogasawara H., Kodama Y., *et al.* (1990). Long-term toxicity/carcinogenicity of musk xylol in b6c3f mice. *Food and Chemical Toxicology*, 28: 581-586.

Organisation de coopération et de développment économiques (OCDE) (2002). Guidance notes for analysis and evaluation of chronic toxicity and carcinogenicity studies. OECD environment, health and safety publications. Series on testing and assessment n°35 and pesticides n°14. env/jm/mono19.

Schmeiser H.H., Gminski R., Mersch-Sundermann V. (2001). Evaluation of health risks caused by musk ketone. *International Journal of Hygiene and Environmental Health*, 203: 293-299.



Schreurs R.H., Legler J., Artola-Garicano E., Sinnige T.L., Lanser P.H., *et al.*, (2004). *In vitro* and *in vivo* antiestrogenic effects of polycyclic musks in zebrafish. *Environmental Science and Technology*, 38: 997-1002.

Schreurs R.H., Sonneveld E., Jansen J.H., Seinen W., Van der Burg B. (2005). Interaction of polycyclic musks and UV filters with the estrogen receptor (ER), androgen receptor (AR), and progesterone receptor (PR) in reporter gene bioassays. *Toxicological Sciences*, 832: 264-272.

Scientific committee on health and environmental risks (SCHER) (2006). Opinion on classification of musk ketone- january.

Scientific committee on cosmetic products and non-food products intended for consumers (SCCNFP) (1999). Opinion concerning musk ketone. SCCNFP/0162/99.

Scientific committee on cosmetic products and non-food products intended for consumers (SCCNFP) (1999). Opinion concerning musk xylene. SCCNFP/0163/99.

Scientific committee on cosmetic products and non-food products intended for consumers (SCCNFP) (2004). Opinion concerning musk ketone and musk xylene. SCCNFP/0817/04.

Yamauchi R., Ishibashi H., Hirano M., Mori T., Kim J.W., *et al.* (2008). Effects of synthetic polycyclic musks on estrogen receptor, vitellogenin, pregnane X receptor, and cytochrome P450 3A gene expression in the livers of male medaka (*Oryzias latipes*). *Aquatic Toxicology*, 90: 261-268.