

Le directeur général

Maisons-Alfort, le 29 avril 2024

AVIS

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

**relatif à l'examen du classement de la pertinence pour le métabolite R417888
du chlorothalonil et au réexamen du classement de la pertinence pour le
métabolite R471811 du chlorothalonil dans les eaux destinées à la
consommation humaine**

L'Anses met en œuvre une expertise scientifique indépendante et pluraliste.

L'Anses contribue principalement à assurer la sécurité sanitaire dans les domaines de l'environnement, du travail et de l'alimentation et à évaluer les risques sanitaires qu'ils peuvent comporter.

Elle contribue également à assurer d'une part la protection de la santé et du bien-être des animaux et de la santé des végétaux et d'autre part à l'évaluation des propriétés nutritionnelles des aliments.

Elle fournit aux autorités compétentes toutes les informations sur ces risques ainsi que l'expertise et l'appui scientifique technique nécessaires à l'élaboration des dispositions législatives et réglementaires et à la mise en œuvre des mesures de gestion du risque (article L.1313-1 du code de la santé publique).

Ses avis sont publiés sur son site internet.

L'Agence nationale de sécurité sanitaire de l'alimentation, de l'environnement et du travail (Anses) a été saisie par la Direction générale de la santé (DGS) :

- le 15 février 2023, pour examiner le classement de la pertinence pour les eaux destinées à la consommation humaine (EDCH) du métabolite R417888 du chlorothalonil;
- le 3 juillet 2023, pour réexaminer le classement de la pertinence pour les EDCH du métabolite R471811 du chlorothalonil.

1. CONTEXTE RÉGLEMENTAIRE ET OBJETS DES SAISINES

Pour garantir la qualité des EDCH, la directive 2020/2184, transposée en droit français, fixe des valeurs paramétriques pour les concentrations en pesticides et leurs métabolites pertinents ($0,1 \mu\text{g.L}^{-1}$ par substance individuelle¹ et $0,5 \mu\text{g.L}^{-1}$ pour la somme des pesticides et de leurs métabolites), sans définir les critères ou les modalités d'évaluation de cette

¹ À l'exception de l'aldrine, dieldrine, heptachlore et heptachlore époxyde pour lesquels la valeur est de $0,03 \mu\text{g.L}^{-1}$.

pertinence. L'arrêté du 11 janvier 2007 modifié reprend ces valeurs en tant que limites de qualité (LQ) dans les EDCH pour les pesticides et leurs métabolites pertinents.

À la demande de la DGS, l'Anses a proposé le 30 janvier 2019 (Anses, 2019) une méthodologie permettant l'évaluation de la pertinence des métabolites de pesticides dans les EDCH au vu des connaissances scientifiques disponibles. Elle est destinée à être mise en œuvre dans le cadre d'une expertise collective de l'Anses, en s'appuyant sur les données disponibles (dossiers d'homologation, littérature scientifique, ...). Sur la base du résultat d'une telle évaluation, et de tout autre élément considéré approprié, la DGS statue sur la pertinence des métabolites devant faire l'objet d'une attention particulière (en termes de surveillance, de limite de qualité, ...). En l'absence d'évaluation, un métabolite est considéré pertinent par défaut.

Pour les métabolites non pertinents de pesticides, la directive susmentionnée demande aux États membres d'établir une valeur indicative aux fins de gestion de leur présence dans les EDCH. Ainsi, l'arrêté du 11 janvier 2007 modifié fixe pour ces métabolites une valeur indicative de 0,9 µg.L⁻¹, résultant de l'avis de l'Anses du 30 janvier 2019.

Concernant le métabolite R 417888 du chlorothalonil :

Le 15 février 2023, la DGS a saisi l'Anses pour examiner le classement de la pertinence du métabolite R417888 du chlorothalonil dans les EDCH (saisine enregistrée sous le numéro 2023-SA-0041-a). Cette demande fait suite aux résultats de la campagne nationale exploratoire menée par le laboratoire d'hydrologie de Nancy (LHN) de l'Anses entre 2020 et 2022 (Anses, 2023), et à des demandes spécifiques formulées par les agences régionales de santé (ARS).

Concernant le métabolite R 471811 du chlorothalonil :

À la demande de la DGS, l'Anses avait caractérisé la pertinence du métabolite R471811 dans son avis du 26 janvier 2022 (Anses, 2022). En s'appuyant sur le schéma d'évaluation établi par l'Anses pour la détermination de la pertinence dans les EDCH (Anses, 2019), ce métabolite du chlorothalonil a été proposé « pertinent dans les EDCH » par l'Anses, en raison de la proposition de classement par l'EFSA de la substance active (SA) parente en cancérigène 1B au titre du règlement « *classification, labelling, packaging (CLP)* » (CE) n°1272/2008 et d'un manque de données pour prouver que le métabolite ne partage pas le mode d'action de la SA parente aboutissant à des tumeurs rénales.

Fin juin 2023, la société Syngenta², une des sociétés ayant commercialisé des produits à base de la SA chlorothalonil, a transmis à la DGS des éléments complémentaires (études et argumentaire) relatifs à la cancérigénicité du métabolite R471811 (§ 3.2.2.4). En raison de difficultés persistantes de gestion de l'alimentation en eau potable, liées au classement de la pertinence de ce métabolite pour les EDCH et de l'état de contamination de ces eaux par celui-ci, la DGS a saisi l'Anses en date du 3 juillet 2023 pour une demande de réexamen du classement de la pertinence de ce métabolite dans les EDCH au regard des nouveaux éléments transmis (saisine enregistrée sous le numéro 2023-SA-0142-a).

² Désigné comme « le déclarant » dans la suite de cet avis.

2. ORGANISATION DE L'EXPERTISE

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

L'expertise relève du domaine de compétences du comité d'experts spécialisé (CES) « Eaux ». L'Anses a confié l'expertise à trois rapporteurs rattachés au groupe de travail « Évaluation des risques sanitaires associés aux paramètres chimiques des eaux destinées à la consommation humaine » (GT ERS EDCH) pour l'examen du caractère « pertinent pour les EDCH » du métabolite R417888 du chlorothalonil et le réexamen de celui du métabolite R471811 (voir annexe 2).

Les travaux et le projet d'avis ont été présentés au GT ERS EDCH et discutés lors des réunions suivantes :

- 11 juillet et 12 septembre 2023, 15 janvier et 13 février 2024 pour le métabolite R417888 ;
- 14 décembre 2023, 15 janvier, 13 février et 11 mars 2024 pour le métabolite R471811.

Les travaux ont été présentés au CES « Eaux » tant sur les aspects méthodologiques que scientifiques les 5 septembre 2023, 5 mars 2024 et 2 avril 2024.

Le projet d'avis a été adopté par le CES à la séance du 2 avril 2024.

L'Anses analyse les liens d'intérêts déclarés par les experts avant leur nomination et tout au long des travaux, afin d'éviter les risques de conflits d'intérêts au regard des points traités dans le cadre de l'expertise.

Les déclarations d'intérêts des experts sont publiées sur le site internet : <https://dpi.sante.gouv.fr/>.

3. ANALYSE ET CONCLUSION DU CES « EAUX »

La méthode d'évaluation de la pertinence des métabolites de pesticides pour les EDCH (Annexe 1), détaillée dans l'avis de l'Anses du 30 janvier 2019 (Anses, 2019), a été appliquée aux métabolites R417888 et R471811 du chlorothalonil. Les données considérées pour (ré)évaluer leur pertinence pour les EDCH sont issues de la documentation rendue disponible dans le cadre de la demande de réévaluation du chlorothalonil (« *Renewal Assessment Report* » (RAR)) rédigé par l'État membre rapporteur (EMR) du dossier d'évaluation (« *Rapporteur Member State* » (RMS)) (EFSA, 2017a, 2017b, 2017c, 2017d), de l'« *EFSA Journal* » (EFSA, 2018) et de la littérature scientifique. Pour le métabolite R471811, les données complémentaires transmises par le déclarant ont également été considérées.

3.1. Métabolite R417888 du chlorothalonil

3.1.1. Identification

Le métabolite R417888 est issu de la dégradation du chlorothalonil, SA utilisée pour son activité fongicide, dont l'approbation européenne a pris fin le 30 avril 2019 (Règlement

d'exécution (UE) n° 2019/677)³. Sa dénomination IUPAC est l'acide 2-amido-3,5,6-trichloro-4-cyanobenzènesulfonique. Il est aussi possible de le trouver dans le RAR sous les appellations suivantes : M12, VIS01, R6, *Compound 10*, U6 CSCC890840. Il est également référencé sous le libellé « chlorothalonil SA » [7717] dans le référentiel Sandre⁴. Sa structure est présentée en figure 1. Son numéro CAS est le 1418095-02-9. Il est à noter que le métabolite R417888 est également issu du métabolisme de la SA chez le rat. Il s'agit d'un métabolite obtenu après conjugaison au glutathion révélé seulement dans le plasma à hauteur de 5,5-17 % (EFSA, 2017b).

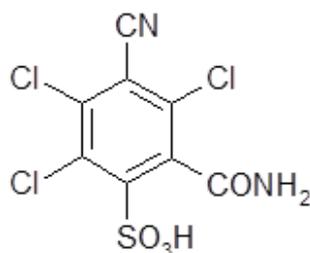


Figure 1 : Structure chimique du métabolite R417888 du chlorothalonil.

3.1.2. Évaluation de la pertinence

Des informations sur l'activité « pesticide » du métabolite R417888 ainsi que des données toxicologiques sont disponibles dans l'« *EFSA Journal* » (EFSA, 2018) et dans le RAR (EFSA 2017a, 2017b, 2017c, 2017d). Une recherche bibliographique a été réalisée en juin 2023 pour ce métabolite concernant les effets génotoxiques, la toxicité sur la reproduction, la cancérogénicité, le potentiel de perturbation endocrinienne et le potentiel de transformation dans les filières de traitement d'EDCH. Cette recherche n'a pas permis d'identifier de données pertinentes dans le cadre de cette expertise.

3.1.2.1. Examen de l'activité « pesticide »

L'activité fongicide du métabolite R417888 a été comparée à celle du chlorothalonil dans des études sous serre, à des concentrations auxquelles le chlorothalonil montre une activité fongicide supérieure à 70 % (EFSA, 2017a). Dans ces conditions, le métabolite R417888 ne montre aucune activité fongicide. Il est donc considéré comme n'ayant pas d'activité pesticide.

En conséquence, le CES « Eaux » considère que le métabolite R417888 du chlorothalonil n'est pas classé comme un métabolite pertinent au titre de cette étape. L'évaluation de la pertinence pour les EDCH du métabolite R417888 est donc poursuivie.

3.1.2.2. Examen du potentiel génotoxique

Des résumés synthétiques des résultats de onze essais de génotoxicité figurent dans le RAR (EFSA, 2017c) : trois essais de mutation réverse sur des bactéries, trois essais d'aberration

³ Fin novembre 2019, l'Anses a procédé au retrait de 25 autorisations de mise sur le marché et 8 permis de commerce parallèle de produits phytopharmaceutiques à base de la substance active chlorothalonil, suite à l'entrée en vigueur du règlement (UE) 2019/677 concernant le non-renouvellement de l'approbation de cette substance. La fin de vente et de distribution a été fixée au 20 février 2020. La fin d'utilisation des stocks de produits a été fixée au 20 mai 2020 (<https://ephy.anses.fr/actualites/retrait-produits-base-chlorothalonil>).

⁴ Service d'administration national des données et référentiels sur l'eau ; <https://mdm.sandre.eaufrance.fr/node/303245>

chromosomique *in vitro* chez les mammifères, trois essais *in vitro* de mutation génique sur cellules de mammifères utilisant le gène de la thymidine kinase, un test du micronoyau sur érythrocytes de mammifères et un test de synthèse non programmée de l'ADN (UDS) sur des hépatocytes de mammifères *in vivo*.

Dans le RAR (EFSA, 2017c), l'EMR relate que le déclarant a découvert, après avoir réalisé une vérification analytique pour le métabolite SYN548764 (appelé également M11 ou SYN548581), que la substance testée n'avait pas été correctement synthétisée et qu'il s'agissait en fait de l'isomère alternatif R417888 (appelé aussi M12). D'après le RAR, il a été considéré que les études relatives au métabolite SYN548764 pouvaient constituer des données attribuées au métabolite R417888. Bien que leurs conditions de réalisation soient similaires aux études initiales menées sur le métabolite R417888, et que ces études montrent des résultats similaires, les études menées sur le SYN548764 sont associées à une certaine incertitude concernant l'identité du métabolite, qui a été corrigée *a posteriori*. Dans ce contexte, seules les études réalisées sur le métabolite R417888 ont été prises en compte par le CES « Eaux » dans cette expertise.

L'ensemble des résultats disponibles est présenté dans le tableau 1. Le détail des données de certaines études est parfois accessible dans le RAR. Celles-ci sont mentionnées en gras dans le tableau.

Avis de l'Anses

Saisines n° « 2023-SA-0041-a et 2023-SA-0142-a »

Saisines liées n° 2015-SA-0252 et 2021-SA-0020-b

Tableau 1 : Résumé des études de génotoxicité du métabolite chlorothalonil R417888

Type d'essai	Lignes directrices (LD) suivies par le déclarant	Référence : étude (année de réalisation)	Système cellulaire et véhicule	Doses et concentrations testées	Interprétation des résultats par le « CES Eaux »
Essai de mutation réverse sur des bactéries	OCDE ⁵ 471 (1997)	Étude 24 ⁶ (2000)	<i>Salmonella</i> Typhimurium TA98, TA100, TA1535, TA1537,	Deux expériences, dont une avec pré-incubation 100 – 5 000 µg/plaque Avec ou sans activation métabolique (+/- S9 de rat)	Négatif
	OCDE 471 (1997)	Étude 25 (2005)	<i>Escherichia coli</i> (Etude 24 : WP2P et WP2P uvrA ; Etudes 25 et 26 : WP2 uvrA) ⁷ Véhicule : DMSO	3 ; 10 ; 33 ; 100 ; 333 ; 1 000 ; 3 300 ; 5 000 µg/plaque Avec ou sans activation métabolique (+/- S9 de rat)	
	OCDE 471 (1997) CE 2000/32 (Annexe 4 D) ⁸	Étude 26 (2006)		Pré-expérience et expérience 1 : 3 ; 10 ; 33 ; 100 ; 333 ; 1 000 ; 2 500 ; 5 000 µg/plaque Expérience 2 (avec pré-incubation) : 33 ; 100 ; 333 ; 1 000 ; 2 500 ; 5 000 µg/plaque Avec ou sans activation métabolique (+/- S9 de rat) pour les deux expériences	
Essai <i>in vitro</i> de mutation génique sur	OCDE 476 (1997)	Étude 30 (2000)	Cellules de lymphome de souris L5178Y	Avec ou sans activation métabolique (+/- S9 de rat)	Négatif

⁵ Organisation de coopération et de développement économiques.

⁶ Numéro d'étude issu du RAR (EFSA 2017c).

⁷ Dénomination des souches provenant du RAR

⁸ Annexe 4D de la directive 2000/32/CE de la commission du 19 mai 2000 portant vingt-sixième adaptation au progrès technique de la directive 67/548/CEE du Conseil concernant le rapprochement des dispositions législatives, réglementaires et administratives relatives à la classification, l'emballage et l'étiquetage des substances dangereuses : B.13/14. Mutagénicité - essai de mutation réverse sur bactéries

Avis de l'Anses

Saisines n° « 2023-SA-0041-a et 2023-SA-0142-a »

Saisines liées n° 2015-SA-0252, et 2021-SA-0020-b

Type d'essai	Lignes directrices (LD) suivies par le déclarant	Référence : étude (année de réalisation)	Système cellulaire et véhicule	Doses et concentrations testées	Interprétation des résultats par le « CES Eaux »
cellules de mammifères utilisant le gène de la thymidine ⁹ kinase			Véhicule : DMSO	<p><u>Expérience 1</u> : 500-3 770 µg.mL⁻¹ (4 h de traitement, +/- S9 de rat)</p> <p><u>Expérience 2a</u> : 500-2 000 µg.mL⁻¹ (24 h de traitement, +/- S9 de rat)</p> <p><u>Expérience 2b</u> : 500-3 770 µg.mL⁻¹ (4 h de traitement, +/- S9 de rat)</p> <p><u>Expérience 3</u> : 1 000-2 000 µg.mL⁻¹ (24 h de traitement, +/- S9 de rat)</p>	
	OCDE 476 (1997)	Étude 31 (2006)		<p>Avec ou sans activation métabolique (+/- S9 de rat)</p> <p>10 ; 33 ; 100 ; 333 ; 560 ; 1 000 ; 2 500 ; 3 465 µg.mL⁻¹ (-S9) 3 ; 10 ; 33 ; 100 ; 333 ; 560 ; 1 000 µg.mL⁻¹ (+S9)</p>	<p>Négatif en absence de S9</p> <p>Positif en présence de S9 (> 333 µg.mL⁻¹)</p>
	OCDE 476 (1997) CE 2000/32 (Annexe 4 E) ¹⁰	Etude 32 (2007)		<p>Avec ou sans activation métabolique (+/- S9 de rat)</p> <p><u>Expérience 1</u> :</p> <ul style="list-style-type: none"> • 8,8[#];17,5 ; 35,0 ; 70,0 ; 105 ; 140 ; 210,0[#] ; 280,0[#] µg.mL⁻¹ (4 h de traitement, -S9) • 75[#] ; 150[#]; 300[#];600 ; 900 ; 1 200 ; 1 800 ; 2 300 µg.mL⁻¹ (4 h de traitement, +S9) <p><u>Expérience 2</u> :</p>	<p>Négatif en absence de S9</p> <p>Équivoque en présence de S9 (essai non reproductible et concentrations cytotoxiques)</p>

⁹ Cet essai est actuellement décrit sous la référence OCDE n°490 (2016) depuis sa révision en juillet 2016.

¹⁰ Annexe 4E de la directive 2000/32/CE de la commission du 19 mai 2000 portant vingt-sixième adaptation au progrès technique de la directive 67/548/CEE du Conseil concernant le rapprochement des dispositions législatives, réglementaires et administratives relatives à la classification, l'emballage et l'étiquetage des substances dangereuses : B.17. Mutagénicité - Essai in vitro de mutation génique sur cellules de mammifère

Avis de l'Anses

Saisines n° « 2023-SA-0041-a et 2023-SA-0142-a »

Saisines liées n° 2015-SA-0252, et 2021-SA-0020-b

Type d'essai	Lignes directrices (LD) suivies par le déclarant	Référence : étude (année de réalisation)	Système cellulaire et véhicule	Doses et concentrations testées	Interprétation des résultats par le « CES Eaux »
				<ul style="list-style-type: none"> 18,0 ; 36,0 ; 72,0 ; 144 ; 216 ; 288# $\mu\text{g.mL}^{-1}$ (24 h de traitement, -S9) 75 ; 150 ; 300 ; 600 ; 900 ; 1 200# ; 1 800# $\mu\text{g.mL}^{-1}$ (4 h de traitement, +S9) <p>#cultures non poursuivies Deux cultures indépendantes par expérience menées en parallèle</p>	
Essai d'aberration chromosomique <i>in vitro</i> chez les mammifères	OCDE 473 (1997)	Étude 27 (2000)	Lymphocytes primaires humains Véhicule : DMSO	250 ; 2 000 ; 3 770 $\mu\text{g.mL}^{-1}$ Avec ou sans activation métabolique (+/- S9 de rat) <u>Expérience 1</u> : 3 h de traitement (+/-S9) <u>Expérience 2</u> : 3 h (+S9) et 20 h (-S9) de traitement <u>Expériences 3 et 4</u> : 20 h de traitement (-S9)	Négatif en présence de S9 Positif sans S9 après 20 h
		Étude 28 (2000)		250 ; 2 000 ; 3 770 $\mu\text{g.mL}^{-1}$ (3h) 250 ; 1 000 ; 2 000 $\mu\text{g.mL}^{-1}$ (20h) Avec ou sans activation métabolique (+/- S9 de rat) <u>Expérience 1</u> : 3 h de traitement (+/-S9) <u>Expérience 2</u> : 3 h (+S9) ou 20h de traitement (-S9)	Négatif en présence et en l'absence de S9
		Étude 29 (2007)		410,5 ; 718,4 ; 1 257,1 ; 2 200 $\mu\text{g.mL}^{-1}$ Avec ou sans activation métabolique (+/- S9 de rat) <u>Expérience 1</u> : 4 h de traitement (+/- S9) <u>Expérience 2</u> : 22 h de traitement (-S9) Comptage des cellules : 50 à 100 métaphases par culture (2 cultures)	Positif en l'absence de S9 à 4h (forte dose) et 22h (toutes doses)

Avis de l'Anses

Saisines n° « 2023-SA-0041-a et 2023-SA-0142-a »

Saisines liées n° 2015-SA-0252, et 2021-SA-0020-b

Type d'essai	Lignes directrices (LD) suivies par le déclarant	Référence : étude (année de réalisation)	Système cellulaire et véhicule	Doses et concentrations testées	Interprétation des résultats par le « CES Eaux »
Test du micronoyau <i>in vivo</i> sur érythrocytes de mammifères	OCDE 474 (1997)	Étude 33 (2005)	Souris NMRI CD-1 Véhicule : sérum physiologique (NaCl 0,9 %)	2 000 mg.kg pc ⁻¹ par gavage, 24 h et 48 h de traitement Nombre d'animaux : 5 par sexe et par dose Comptage : 2 000 érythrocytes Absence de données d'exposition de la moelle osseuse (MO) (données plasmatiques uniquement à 4 et 24h)	Négatif pour la clastogénicité Les effets aneugènes n'ont pas été recherchés
Test de synthèse non programmée de l'ADN (UDS) sur des hépatocytes de mammifères <i>in vivo</i>	OCDE 486 (1997)	Étude 34 (2006)	Hépatocytes primaires de rat <i>in vivo</i> Véhicule : Polyéthylène glycol 400 (PEG 400)	1 000 et 2 000 mg.kg pc ⁻¹ par gavage Mise en culture des cellules en triplicat pendant 2 et 16 h Nombre d'animaux : 4 par sexe et par dose Comptage de 100 cellules par animal (deux lames)	Négatif

► Essais de mutation réverse sur des bactéries

Les propriétés mutagènes du métabolite R417888 ont été évaluées par trois essais de mutation réverse (études 24, 25 et 26) réalisés sur des bactéries conformément à la ligne directrice OCDE 471 (OCDE, 1997a). Les résultats de ces essais sont présentés partiellement ou entièrement dans le RAR (EFSA, 2017c). Ces essais ont été effectués selon les bonnes pratiques de laboratoire (BPL) et reposent sur l'étude du potentiel mutagène du composé sur différentes souches bactériennes de *Salmonella* Typhimurium (TA1535, TA100, TA1537, TA98) et *Escherichia coli* (Étude 24 : WP2P et WP2P uvrA ; Études 25 et 26 : WP2 uvrA)¹¹.

Tous les essais ont été réalisés en présence et en l'absence d'un système exogène d'activation métabolique en utilisant des gammes de concentrations en métabolite R417888 comprises entre 3 et 5 000 µg par plaque lors d'essais en incorporation directe, ou avec pré-incubation (5 000 µg par plaque correspondant à la dose maximale recommandée par la ligne directrice de l'OCDE 471 (OCDE, 1997a)).

Pour l'ensemble de ces essais, l'EMR conclut que le métabolite R417888 n'a pas induit de mutations géniques par des changements de paires de bases ou des décalages du cadre de lecture dans le génome des souches utilisées. Ces conclusions sont reprises par les experts du CES « Eaux ».

► Essais *in vitro* de mutation génique sur cellules de mammifères utilisant le gène de la thymidine kinase

Trois études (études 30, 31 et 32) ont été réalisées pour évaluer le potentiel du métabolite R417888 à induire des mutations au locus TK sur la lignée cellulaire de lymphome de souris L5178Y selon la ligne directrice OCDE 476 (1997d). Deux à trois expériences indépendantes ont été réalisées dans chacune des études principales et des concentrations comprises entre 3 et 3 770 µg.mL⁻¹ ont été testées.

Les résultats détaillés de l'étude 30 (2000) ne sont pas disponibles dans le RAR. Le test a été considéré négatif dans ce celui-ci (EFSA, 2017c).

Dans l'étude 31 (2006), en l'absence d'activation métabolique (S9 de rat), ce métabolite n'a pas induit d'augmentation de la fréquence de mutations quelle que soit la concentration testée (10 à 3 465 µg.mL⁻¹). En présence d'activation métabolique, la fréquence des mutations croît dès 333 µg.mL⁻¹ et augmente avec la concentration. Sur la base de ces résultats, il est conclu dans le RAR que le métabolite R417888 est mutagène dans les cellules L5178Y en présence d'activation métabolique à des concentrations cytotoxiques. Aucun effet mutagène n'est observé en absence d'activation métabolique.

L'étude 32 (2007), met en évidence des résultats positifs mais non reproductibles.

En l'absence d'activation métabolique (S9 de rat), un résultat positif isolé a été obtenu après 24 heures de traitement à la concentration de 216 µg.mL⁻¹ dans la culture II de l'expérience II. Les résultats ont été jugés comme non reproductibles et donc biologiquement non pertinents par le notifiant puisqu'aucun effet comparable ne s'est produit dans la culture II menée en

¹¹ Dénomination des souches provenant du RAR

parallèle dans des conditions identiques. La réponse a été considérée comme négative sans activation métabolique dans le RAR (EFSA, 2017c).

En présence d'activation métabolique, des résultats positifs ont été observés dans la culture I lors de l'expérience I, à 1 200, 1 800 et 2 300 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ et après quatre heures de traitement. Les résultats obtenus à la concentration de 2 300 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ ne sont pas pris en compte par le notifiant en raison d'une trop forte toxicité (efficacité relative du clonage de 7,2 %). Au contraire, des résultats négatifs dans les mêmes conditions expérimentales ont été obtenus dans la culture II de l'expérience I. Les résultats ont donc également été jugés comme non reproductibles et donc biologiquement non pertinents par le notifiant. L'expérience II n'a pas permis de confirmer ces effets positifs car les cultures exposées aux concentrations de 1 200 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ et de 1 800 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ n'ont pas été poursuivies en raison d'une cytotoxicité trop importante. Sur la base de ces résultats, la réponse a été considérée comme équivoque après activation métabolique dans le RAR (EFSA, 2017c).

Ainsi, avec activation métabolique, le métabolite R417888 a induit des mutations géniques sur les cellules de lymphomes L5178Y dans une des trois études (étude 31). Dans l'étude 32, les résultats ont été considérés comme équivoques avec activation métabolique en raison de la non reproductibilité de l'essai.

D'après l'ensemble de ces données, le métabolite R417888 est considéré par les experts du CES « Eaux » comme non mutagène sans activation métabolique. Pour les raisons évoquées plus haut, le CES « Eaux » note qu'il n'est toutefois pas possible de conclure quant à l'absence d'effet mutagène en présence d'activation métabolique.

► Essais d'aberration chromosomique *in vitro* chez les mammifères

Le potentiel d'induction d'aberrations chromosomiques *in vitro* a été étudié à trois reprises pour le métabolite R417888 sur des lymphocytes humains en culture en suivant la ligne directrice OCDE 473 (1997b). Au cours de ces trois essais (études 27, 28 et 29), les cellules ont été exposées systématiquement à trois concentrations pouvant être comprises entre 250 et 3 770 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ pendant trois ou quatre heures (traitement de courte durée) avec ou sans activation métabolique (S9 de rat) et pendant 20 ou 22 heures (traitement de longue durée) sans activation métabolique.

Seule l'étude 29 (2007) est détaillée dans le RAR et confirme les résultats obtenus précédemment dans l'étude 27 (2000). Dans l'étude 29, 100 métaphases par culture et par expérience ont été évaluées. Pour la plus forte concentration testée (2 200 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$), après 22 heures d'exposition en l'absence d'activation métabolique, seulement 50 métaphases ont été évaluées en raison d'un effet clastogène très fort. En l'absence d'activation métabolique, une augmentation statistiquement significative des cellules porteuses d'aberrations chromosomiques a été observée après quatre heures, pour la plus forte concentration de 2 200 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$, et après 22 heures de traitement dès la première concentration d'exposition (410,5 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$), et ce, de manière dose-dépendante. De plus, le nombre de cellules porteuses d'échanges de segments chromosomiques a été nettement augmenté, apportant une preuve supplémentaire du potentiel clastogène. En présence d'activation métabolique, aucune augmentation statistiquement significative ni biologiquement pertinente des cellules porteuses d'aberrations chromosomiques n'a été observée.

D'après l'ensemble de ces résultats d'évaluation figurant dans le RAR (EFSA, 2017c), le métabolite R417888 a induit *in vitro* sans activation métabolique l'apparition significative d'aberrations chromosomiques sur des lymphocytes primaires humains pour deux études (27

et 29) sur les trois réalisées. Par conséquent, les experts du CES « Eaux » considèrent que le métabolite R417888 présente des effets clastogènes.

► Test *in vivo* du micronoyau sur érythrocytes de mammifères

Le potentiel clastogène a été évalué par le test du micronoyau sur érythrocytes de mammifères *in vivo* (étude 33). Dans cette étude, cinq souris mâles NMRI ont été traitées par gavage à une dose unique de 2 000 mg.kg pc⁻¹. Les frottis de moelle osseuse (MO) ont été analysés au microscope en comptant les micronoyaux dans 2 000 érythrocytes polychromatiques par animal après 24 ou 48 heures de traitement sans aucun marquage complémentaire permettant de distinguer les effets aneugènes des effets clastogènes. Lors de ce test, au cours duquel l'exposition de la MO n'a pas été vérifiée, aucune toxicité pour la MO n'a été démontrée. Cependant, l'exposition de la MO a été prouvée, *a posteriori*, lors d'une autre étude par la détection du métabolite R417888 chez des souris mâles CD-1 dans le sang et le plasma, avec des concentrations circulantes dans le plasma supérieures à 8 µg.mL⁻¹ après quatre heures post-administration, puis sous la limite de détection à 24h. Dans ces conditions expérimentales, il a été conclu dans le RAR (EFSA, 2017c) que le métabolite R417888 ne pouvait induire un effet clastogène mais qu'aucune conclusion ne pouvait être tirée sur l'aneugénicité. Concernant les effets aneugènes, le CES « Eaux » note que, conformément aux recommandations de l'OCDE 474 (OCDE, 1997c), l'évaluation de ces derniers après une exposition de la MO aurait nécessité un traitement à deux reprises par gavage des souris, et ce afin de s'assurer que les différents mécanismes d'aneugénicité soient révélés (i.e. atteinte du fuseau mitotique).

► Essais de synthèse non programmée de l'ADN (UDS) sur des hépatocytes de mammifères *in vivo*

Le test de synthèse non programmée de l'ADN a été réalisé conformément à la directive de l'OCDE 486 (1997e). Dans le cadre de cette expérience, des rats ont été traités à des doses de 1 000 et 2 000 mg.kg pc⁻¹ par gavage. Les hépatocytes primaires ont ensuite été isolés pour être mis en culture pendant 2 à 16h. Un comptage de 100 cellules n'a pas mis en évidence de différences significatives entre les conditions témoins et les cultures traitées.

■ **Conclusions sur le potentiel génotoxique du métabolite R417888 du chlorothalonil**

Les données *in vitro* disponibles ont montré que le métabolite R417888 est susceptible d'induire des mutations géniques sur des cellules de lymphomes de souris L5178Y en présence d'activation métabolique. Les tests sur cellules humaines (lymphocytes) ont montré des effets clastogènes en l'absence d'activation métabolique. Les résultats négatifs obtenus dans l'étude *in vivo* investiguant ces effets ne sont pas considérés assez robustes pour invalider les résultats obtenus sur cellules humaines *in vitro* (absence de preuve d'exposition de la MO sur un temps suffisant après une seule exposition). Les effets aneugènes n'ont pas été investigués en conformité avec les lignes directrices de l'OCDE 474 (OCDE, 1997c). Le CES « Eaux » souligne qu'un test des comètes *in vivo* aurait permis d'apporter des éléments sur les effets clastogènes et aneugènes et ainsi de lever les doutes.

Sur la base de ces résultats, le CES « Eaux » considère, qu'il n'est pas possible d'exclure l'existence d'un potentiel génotoxique du métabolite R417888 du chlorothalonil.

3.1.3. Conclusion du CES « Eaux » sur la pertinence du métabolite R417888 du chlorothalonil

Sur la base des données des monographies européennes, et selon le schéma d'évaluation de détermination de la pertinence dans les EDCH (Anses, 2019), considérant les incertitudes soulevées sur les effets mutagènes, clastogènes et aneugènes lors de l'examen des études disponibles pour l'évaluation de son potentiel génotoxique, **le métabolite R417888 du chlorothalonil est considéré comme un métabolite « pertinent pour les EDCH ».**

3.2. Métabolite R471811 du chlorothalonil

3.2.1. Identification

Le métabolite R471811 est issu de la dégradation dans les sols du chlorothalonil, SA anciennement utilisée pour son activité fongicide, dont l'autorisation européenne a pris fin le 30 avril 2019 (Règlement d'exécution (UE) n° 2019/677)¹². Sa dénomination chimique IUPAC est l'acide 2,4-dicarbamoyl-3,5,6-trichlorobenzènesulfonique (Figure 2). Il est aussi possible de le trouver dans le RAR sous les appellations suivantes : SYN548766, M4, R7, *Compound 13*, CSCA202566. Aucun numéro CAS associé à ce métabolite n'a été retrouvé.

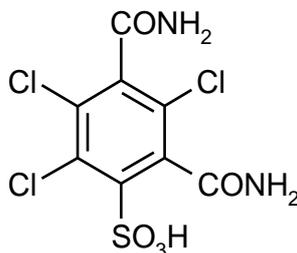


Figure 2 : Structure chimique du métabolite R471811 du chlorothalonil.

3.2.2. Évaluation de la pertinence

Comme indiqué dans le chapitre 1 du présent avis, la pertinence du métabolite R471811 du chlorothalonil pour les EDCH a déjà été évaluée en 2022. Les conclusions de l'avis du 26 janvier 2022 (Anses, 2022) sont reprises et amendées par celles tirées de l'analyse des nouvelles données rendues disponibles concernant l'examen de la cancérogénicité du métabolite R471811.

Des informations sur l'activité « pesticide » du métabolite R471811 ainsi que des données toxicologiques sont disponibles dans l'« *EFSA Journal* » (EFSA, 2018) et dans le RAR (EFSA 2017a, 2017b, 2017c, 2017d). Une première recherche bibliographique a été réalisée en septembre 2023 puis actualisée en février 2024 pour le métabolite R471811 concernant les effets génotoxiques, la toxicité sur la reproduction, la cancérogénicité, le potentiel de

¹² Fin novembre 2019, l'Anses a procédé au retrait de 25 autorisations de mise sur le marché et 8 permis de commerce parallèle de produits phytopharmaceutiques contenant la SA chlorothalonil, suite à l'entrée en vigueur du règlement (UE) 2019/677 concernant le non-renouvellement de l'approbation de cette substance. La fin de vente et de distribution a été fixée au 20 février 2020. La fin d'utilisation des stocks de produits a été fixée au 20 mai 2020 (<https://ephy.anses.fr/actualites/retrait-produits-base-chlorothalonil>).

perturbation endocrinienne et le potentiel de transformation dans les filières de traitement d'EDCH. Cette recherche bibliographique a notamment permis d'appuyer l'examen de la cancérrogénicité, du potentiel de perturbation endocrinienne et de l'évaluation de la transformation potentielle dans la filière de traitement EDCH.

3.2.2.1. Examen de l'activité « pesticide »

L'activité fongicide du métabolite R471811 a été comparée à celle du chlorothalonil dans des études sous serre, à des concentrations auxquelles le chlorothalonil montre une activité fongicide supérieure à 70 % (EFSA, 2017a). Dans ces conditions, le métabolite R471811 ne montre aucune activité fongicide.

Dans son avis du 26 janvier 2022 (Anses, 2022), le CES « Eaux » a considéré le métabolite R471811 du chlorothalonil comme n'étant pas classé comme un métabolite pertinent au titre de cette étape.

L'évaluation de la pertinence pour les EDCH du métabolite a donc été poursuivie.

3.2.2.2. Examen du potentiel génotoxique

L'« *EFSA Journal* » (EFSA, 2018) et le RAR (EFSA, 2017c) présentent des résumés synthétiques des résultats de trois essais : un essai de mutation réverse sur des bactéries, un essai d'aberration chromosomique *in vitro* chez les mammifères, et un essai *in vitro* de mutation génique sur cellules de mammifères utilisant le gène de la thymidine kinase. Ces trois essais ont été réalisés selon les lignes directrices 471, 473 et 476¹³, respectivement (OCDE, 1997a, 2014 et 1997d).

Dans son avis du 26 janvier 2022 (Anses, 2022), le CES « Eaux » avait considéré que ces trois tests permettaient de conclure que le métabolite R471811 n'est pas mutagène ni clastogène au regard des données expérimentales disponibles.

Le CES « Eaux » avait également noté que d'autres tests auraient permis d'affiner l'exploration du potentiel aneugène mais avait considéré que, sur la base des trois essais réalisés, le métabolite R471811 du chlorothalonil n'était ni mutagène, ni clastogène.

En conclusion, le CES « Eaux » a considéré dans son avis du 26 janvier 2022, conformément à la méthodologie, que le métabolite R471811 du chlorothalonil n'était pas classé pertinent au titre de cette étape.

L'évaluation de la pertinence pour les EDCH a donc été poursuivie.

3.2.2.3. Examen de la toxicité sur la reproduction

Aucune donnée de la toxicité de la reproduction spécifique du métabolite R471811 du chlorothalonil n'est disponible tant dans le RAR que dans la littérature scientifique.

En l'absence de données sur le caractère reprotoxique du métabolite évalué, conformément à la méthodologie, le CES « Eaux » a examiné les informations disponibles relatives au classement harmonisé de la SA parente au titre du règlement 1272/2008 et ses ATP ou des propositions de classement par l'EFSA en prenant en compte les données les plus récentes.

¹³ Cet essai est actuellement décrit sous la référence OCDE 490 (2016) depuis sa révision en juillet 2016.

La SA du métabolite, le chlorothalonil, a fait l'objet d'une évaluation au titre de ce règlement et ne fait pas l'objet d'un classement pour une propriété reprotoxique (Annexe VI du règlement CLP (CE) n° 1272/2008).

En conclusion, selon la méthodologie, considérant l'absence à ce jour de donnée relative aux effets du métabolite sur la reproduction et l'absence de classement de la SA pour une propriété reprotoxique, le CES « Eaux » a considéré, dans son avis du 26 janvier 2022 (Anses, 2022), que le métabolite R471811 du chlorothalonil n'est pas classé comme un métabolite pertinent au titre de cette étape.

L'évaluation de la pertinence pour les EDCH a donc été poursuivie.

3.2.2.4. Examen de la cancérogénicité

A ce jour, aucune donnée de cancérogénicité spécifique au métabolite R471811 du chlorothalonil n'est disponible, ni dans le RAR, ni dans la littérature scientifique.

En l'absence de données sur le caractère de cancérogénicité du métabolite évalué, conformément à la méthodologie, le CES « Eaux » a examiné les informations disponibles relatives au classement harmonisé de la SA parente au titre du règlement 1272/2008 et ses ATP ou des propositions de classement par l'EFSA en prenant en compte les données les plus récentes.

La SA parente, le chlorothalonil, est classée en catégorie 2 pour la cancérogenèse au titre du règlement (CE) n°1272/2008. Cependant, dans le cadre de la réévaluation de la SA menée par l'EFSA (ayant conduit à sa non ré-approbation), une proposition de classement en catégorie 1B (EFSA, 2018) de la SA chlorothalonil a été formulée par l'EFSA suite à l'observation de tumeurs rénales chez deux espèces, le rat et la souris, dans au moins deux études de cancérogénicité (EFSA, 2017c) conformément aux critères du règlement « *Classification, Labelling, Packaging* » (CLP). De plus, conformément au cadre de l'*International programme on chemical safety* (IPCS) / *International life sciences institute* (ILSI) pour l'analyse de la pertinence d'un mécanisme d'action cancéreux pour l'Homme (Boobis *et al.*, 2006), il a été considéré par l'EFSA que le mode d'action menant à ces tumeurs rénales ne pouvait pas être exclu chez l'Homme dans la mesure où des différences métaboliques entre l'espèce humaine et les rongeurs n'étaient pas suffisamment documentées.

Ainsi, considérant :

- la proposition de classement par l'EFSA de la SA parente en cancérogène de catégorie 1B au titre du règlement « *Classification, Labelling, Packaging* » (CLP) (CE) n°1272/2008 ;
- le manque de données pour démontrer que le métabolite R471811 ne partage pas le mode d'action de la SA parente aboutissant à des tumeurs rénales ;

le CES « Eaux » avait conclu que le métabolite R471811 devait être considéré comme un métabolite pertinent pour les EDCH, conformément à la méthodologie détaillée dans l'avis du 30 janvier 2019 (Anses, 2019).

En réponse, comme indiqué au chapitre 1, le déclarant a transmis un argumentaire relatif :

- au mécanisme d'action cancérigène pour la SA chlorothalonil tel que documenté dans le RAR (EFSA, 2017a et 2017b) et sa pertinence pour l'Homme ;

- à la pertinence de ce mécanisme cancérigène pour le métabolite R471811 du chlorothalonil.

En outre, l'argumentaire est appuyé par les données suivantes fournies par le déclarant :

- une étude *in vitro* conçue pour évaluer d'une part, le métabolisme par la β -lyase du chlorothalonil et de ses conjugués-S-cystéine dans les fractions subcellulaires rénales (S9) du rat et de l'Homme et d'autre part, le métabolisme de plusieurs métabolites du chlorothalonil par des microsomes hépatiques de rats et humains (2020) ;
- une étude sur la réactivité du chlorothalonil et des métabolites R182281, R417492 et R471811 sur le glutathion (2001) ;
- un rapport d'évaluation de la toxicité par administration répétée des métabolites du chlorothalonil en tenant compte de la similarité structurelle et des paramètres physico-chimiques des molécules par rapport aux métabolites pour lesquels des données de toxicité existent (à l'aide du modèle QSAR DEREK) (2022) ;
- un document sur le regroupement des métabolites de chlorothalonil par lecture croisée en vue de l'évaluation de leur non-pertinence dans les eaux souterraines (2021) ;
- une étude interne portant sur la distribution tissulaire du ^{14}C -Chlorothalonil ;
- des études internes portant sur l'effet de métabolites du chlorothalonil sur la chaîne respiratoire mitochondriale.

Pour rappel, l'analyse de ces données a été menée dans une perspective d'examen de la pertinence du métabolite R471811 dans les EDCH, selon la méthodologie détaillée dans l'avis du 30 janvier 2019 (Anses, 2019). Ainsi, seuls ont été pris en compte les éléments permettant de déterminer *in fine* si, au regard des nouvelles informations et données fournies, le métabolite R471811 du chlorothalonil partage, ou pas, le mode d'action de la SA aboutissant à des tumeurs rénales. En effet, la saisine n'a pas pour objet de statuer sur la pertinence de ce mécanisme d'action pour l'Homme ou de discuter la proposition de classement par l'EFSA de la SA en cancérigène de catégorie 1B. Par ailleurs, des données issues d'une recherche bibliographique complémentaire ont également été prises en compte pour appuyer cette analyse.

3.2.2.4.1. Mécanisme d'action cancérigène pour la substance active chlorothalonil, tel que présenté par le déclarant sur la base du RAR (EFSA, 2017a et 2017b)

Dans l'argumentaire du déclarant, ont été rassemblées des données explicitant un mécanisme potentiel d'action cancérigène de la SA en se basant à la fois sur les données issues de l'EFSA (2017a et 2017b), les données fournies par le déclarant lui-même ainsi que sur des données bibliographiques supplémentaires et récentes. Les données récentes publiées et indexées ont été privilégiées.

3.2.2.4.1.1. Mécanisme d'action cancérigène

Le mécanisme d'action responsable des effets cancérigènes rénaux observés chez les murins (rats et souris) impliquerait une bioactivation au niveau du tubule contourné proximal rénal.

Une fois absorbé, le chlorothalonil peut être métabolisé par hydroxylation (R182281), par hydrolyse du groupement nitrile en amide (R911966 et R611965) ou pour favoriser son élimination par l'organisme, être conjugué au glutathion (GSH) (Figure 3) pour être secondairement éliminé sous forme d'acide mercapturique.

Dans cette voie classique de détoxification, le conjugué S-glutathion est successivement scindé par une γ -glutamyl-S-transpeptidase (γ -GT) puis par une aminopeptidase pour former finalement un conjugué cystéinyl qui, sous l'action d'une N-acétylcystéine transférase aboutira à un acide mercapturique. Ce dernier sera éliminé principalement par voie urinaire comme en témoigne la présence d'acides di-ou trimercapturiques (R613823, R613825) dans les urines de la plupart des espèces exposées (EFSA, 2017a et 2017b). On peut noter que certaines études menées sur tissus animaux (Uttamsingh *et al.*, 2000; Yamauchi *et al.*, 2002) montrent que des molécules N-acétylées peuvent former à nouveau le conjugué cystéinyl sous l'action d'une acylase rénale.

A l'inverse, pour certaines molécules, le conjugué cystéinyl peut s'engager dans une étape de bioactivation *via* un clivage par une cystéine β -lyase entraînant la formation de composés thiols néphrotoxiques (Cooper *et al.*, 2011 ; Cooper et Hanigan, 2018).

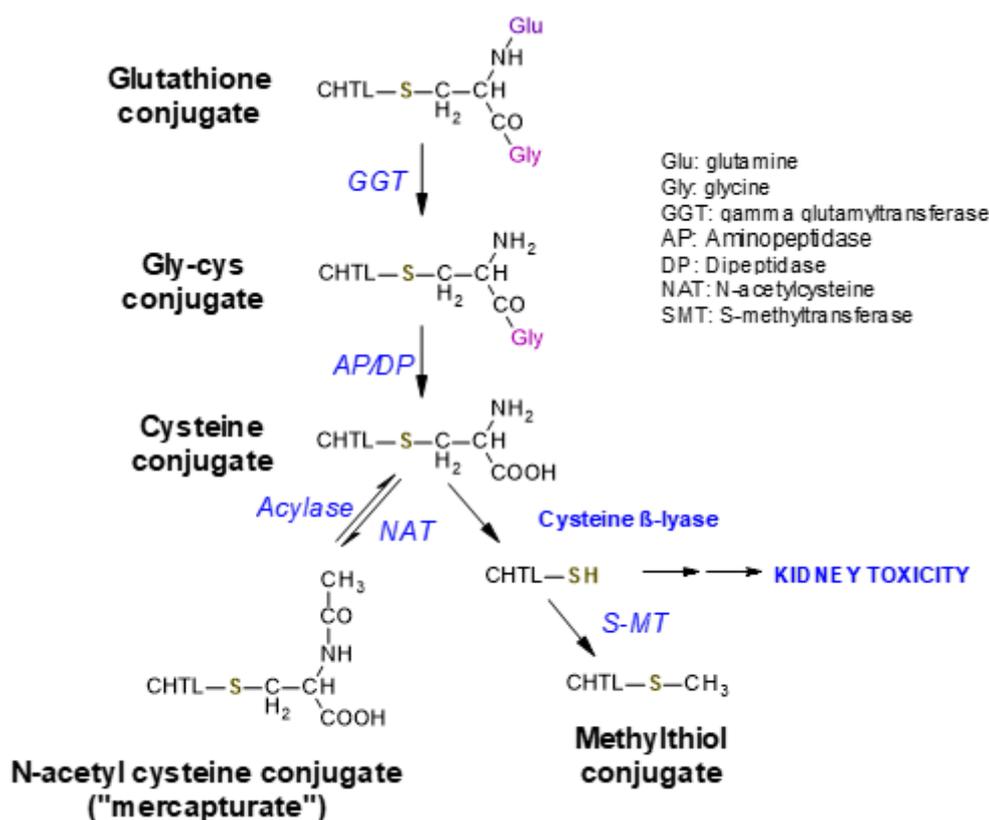


Figure 3 : Mécanisme de bioactivation du chlorothalonil (EFSA, 2017b)

Ce mécanisme de bioactivation, connu de longue date, a été décrit pour de nombreux toxiques en particulier les halogénoalcènes (Cooper et Hanigan, 2018 ; Dekant *et al.*, 2023; Kraus *et al.*, 2000 ; Lash *et al.*, 2000) et les chlorophénols (Rankin *et al.*, 1996).

L'équilibre entre ces deux voies concurrentes et donc de l'activité de trois enzymes, la N-acétyltransférase, la β -lyase et l'aminoacylase qui catalysent les étapes clés de la détoxification ou de la bioactivation, est un déterminant important de la néphrotoxicité de certaines molécules.

Le rôle de la bioactivation catalysée par la β -lyase dans la toxicité rénale des S-conjugués du glutathion a été confirmé dans des études *in vitro* et *in vivo* utilisant des inhibiteurs ou des co-substrats des enzymes de la voie du glutathion (Townsend et Hanigan, 2002 ; Dekant, 2001). Ces études démontrent que la transformation des conjugués S-glutathion en conjugués S-cystéinyl et la bioactivation de ces derniers par la β -lyase sont nécessaires à l'expression de la cytotoxicité et finalement la néphrotoxicité.

Les travaux¹⁴ rassemblés par le déclarant relient dans un premier temps la présence au niveau du tubule contourné proximal de conjugués-S-cystéinyl issus de cette bioactivation à un mécanisme entraînant la mort des cellules rénales. La fraction mitochondriale des fractions subcellulaires du tissu rénal des rats mâles présentait les plus grandes quantités de radioactivité après l'administration de ¹⁴C-chlorothalonil. Ces études *in vitro* (rapport d'étude non publié de 1988, cité dans EFSA, 2017b) montrent que des métabolites du chlorothalonil issus de l'étape de bioactivation (dont le 4,6-dithiol et le 2,4,6-trithiol pour les plus puissants) ont la capacité d'inhiber la respiration mitochondriale au niveau du complexe II de la chaîne respiratoire mitochondriale alors que le métabolite diglutathion du chlorothalonil n'avait aucun effet. Il est probable que la bioactivation conduise à une inhibition du transfert d'électrons du succinate à la coenzyme Q (Wilkinson et Killeen, 1996). Les effets sur la respiration mitochondriale, s'ils se produisent *in vivo*, pourraient entraîner une diminution de la formation d'ATP entraînant des effets sur la pompe Na⁺/K⁺ et un déséquilibre osmotique. Cette mort cellulaire serait due à l'altération du métabolisme énergétique et la perméabilisation de la membrane mitochondriale (Wilkinson et Killeen, 1996). Ce mécanisme menant à la mort des cellules se traduit chez le rat par une vacuolisation tubulaire proximale au cours d'une exposition aiguë (rapport d'étude non publié de 2005 cité dans EFSA, 2017b). Par la suite, une prolifération cellulaire compensatoire avec fibrose interstitielle a été observée au niveau rénal sur des études plus longues, subchroniques et chroniques (NTP, 1978). Dans ce contexte, l'hyperplasie rénale consécutive tendrait ainsi à favoriser l'apparition de clones cancéreux, à l'origine de cancers rénaux chez le rat (McMahon, 1998 ; NTP, 1978).

Les événements clés induits par le chlorothalonil, liés à une biotransformation dans l'organisme par plusieurs enzymes (en particulier les γ -GT et cystéine β -lyase), sont cohérents avec la temporalité des effets observés chez les espèces murines exposées et sont similaires à ceux observés suite à l'activation métabolique des conjugués S-glutathion en thiols cytotoxiques d'autres molécules. Il est donc possible de conclure que le mode d'action proposé pour les tumeurs des tubules rénaux induites par le chlorothalonil chez les espèces murines est biologiquement plausible.

3.2.2.4.1.2. Variabilité tissulaire et interspécifique des enzymes clés du mode d'action

Comme indiqué précédemment, ce mode d'action cancérigène au niveau rénal, bien établi pour d'autres molécules, comporte plusieurs étapes enzymatiques dont l'expression peut varier à la fois entre différents tissus de l'organisme au sein d'une même espèce et entre différentes espèces animales. En catalysant la réaction de certaines molécules exogènes avec le groupe sulfhydryle du glutathion, les glutathion S-transférases jouent un rôle physiologique

¹⁴ Les études citées par le déclarant dans ses documents reprennent pour partie des études le plus souvent anciennes et basées sur des données internes en grande partie non publiées.

primordial dans la détoxification des agents alkylants potentiels. Les conjugués au glutathion ainsi formés sont transportés hors des cellules pour être métabolisés par la γ -GT et des peptidases qui catalysent respectivement l'élimination séquentielle des fragments glutamyl et glycyL. Ces enzymes sont localisées principalement à la surface apicale des tissus épithéliaux. Les conjugués cystéinyls résultants peuvent être réabsorbés par des cellules spécifiques et acétylés sur le groupe amino du résidu cystéine par des N-acétyl-transférases intracellulaires, pour former les acides mercapturiques correspondants. La biosynthèse de l'acide mercapturique est généralement considérée comme un processus interorgane, le foie servant de site principal de conjugaison du glutathion et le rein, le site principal de conversion des conjugués de glutathion en conjugués de cystéine. Ce modèle interorgane de synthèse de l'acide mercapturique repose en grande partie sur la répartition des enzymes impliquées dans leur formation, et en particulier de l'enzyme γ -GT. Hinchman et Ballatori (1990) ont montré que bien que l'activité γ -GT rénale soit prépondérante dans toutes les espèces, l'activité γ -GT hépatique chez les espèces non murines (cochon, macaque, lapin, cochon d'Inde) est largement plus importante par rapport à celles des espèces murines menant à un ratio d'activité rein/foie beaucoup plus important chez ces dernières. En comparant les valeurs obtenues chez l'Homme dans l'étude de Shaw *et al.* (1978) le ratio humain d'activité rein/foie serait de l'ordre de 3, comparable à celui observé chez le cochon d'Inde mais très inférieur à ceux observés chez le rat ou la souris (respectivement de 142 et 128 voire au-delà). Dans les espèces non murines, les molécules glutathion-conjuguées peuvent ainsi être dégradées dès le niveau hépatique notamment dans les canalicules biliaires et se retrouver dans les espaces biliaires sous forme de conjugués cystéinyls. Ces derniers sont ensuite réabsorbés pour être N-acétylés au niveau hépatique pour former des acides mercapturiques et réexcrétés dans la bile, complétant ainsi la voie intrahépatique de biosynthèse des acides mercapturiques. L'importance de la contribution de cette voie intrahépatique à la formation globale des mercapturates dépend naturellement de la distribution tissulaire de l'activité de la γ -GT.

Des différences entre espèces existent également dans l'activité β -lyase rénale. Cette enzyme comporterait plusieurs isoformes aux niveaux d'activité différents et attachées à des localisations intracellulaires (Lash *et al.* 1990; Stevens 1985) ou tissulaires variables selon les espèces (Dekant *et al.* 2023 ; Rooseboom *et al.* 2002). Ainsi, l'activité de β -lyase rénale humaine est présente au niveau cytosolique, mitochondrial et microsomal tandis que chez le rat, celle-ci n'est retrouvée qu'au niveau cytosolique et mitochondrial (Lash *et al.*, 1990). Les données de la littérature ont également montré des variations inter-espèces (Dekant *et al.* 2023 ; Rooseboom *et al.* 2002). Cette enzyme serait plus active dans les espèces murines que chez l'Homme. Lash *et al.* (1990) montrent que l'activité β -lyase dans le cytosol rénal humain, déterminée avec la S-(2-benzothiazolyl)-L-cystéine (BTC) comme substrat, était d'environ 10 % de celle présente dans le cytosol rénal de rat. Bien que plus faible, cette activité reste toujours présente comme l'atteste la présence, chez le singe, de métabolites di-thiométhyl et di-thiométhyl issus de l'activité de la β -lyase au niveau des urines (EFSA, 2017b).

Des études menées sur différents tissus animaux (Uttamsingh *et al.*, 2000) montrent que la forme conjuguée N-acétylcystéine peut également redonner des conjugués cystéinyls par l'action d'une acylase rénale. Là encore, des différences tissulaires et inter-espèces ont été décrites avec notamment une activité plus forte que celle de l'espèce au niveau rénal et une activité plus marquée chez le rat et le lapin par rapport au singe ou au chien (Yamauchi *et al.*, 2002).

3.2.2.4.1.3. Variabilité intra et interspécifique des manifestations toxiques

Les études de toxicité chronique disponibles dans le RAR ne portent que sur des espèces murines, pour lesquelles la survenue de cancers rénaux est incontestable mais non systématique. En effet, les données disponibles dans le RAR (EFSA, 2017b) précisent que les tumeurs rénales ont été observées chez le rat F344 (deux études non publiées de 1985 et 1989, citées dans EFSA, 2017b) et la souris CD-1 (deux études non publiées de 1983 et 1987 citées dans EFSA, 2017b, l'étude de 1987 portant uniquement sur des mâles). Le RAR décrit également une étude chez le rat F344 et une chez la souris CD-1 ne retrouvant aucune tumeur rénale. Par ailleurs, lors des études de cancérogénèse réalisées par le NTP, les tumeurs rénales ne sont retrouvées que chez les rats Osborne-Mendel mais pas chez la souris B6C3F1 (NTP, 1978).

On peut cependant noter que les études menées à moyen et plus long termes (études de cancérogénèse et exposition long terme) soulignent systématiquement une inflammation chronique au niveau rénal, avec une hypertrophie et une hyperplasie cellulaire au niveau de cet organe (McMahon, 1998 ; EFSA, 2017b). Le rein est donc bien l'organe cible chez ces espèces.

Par ailleurs, d'autres modes d'action cancéreux ont été décrits parmi les espèces murines avec l'apparition de tumeurs au niveau du pré-estomac (EFSA, 2017b). Ces résultats peuvent être mis en lien avec les concentrations retrouvées lors d'une étude non publiée de 2007 (citée dans EFSA, 2017b), portant sur la distribution du chlorothalonil radiomarqué chez le rat, les deux tissus dans lesquels la plus forte radioactivité résiduelle est retrouvée après des administrations multiples sont la muqueuse du pré-estomac et le cortex rénal. Le pré-estomac des murins n'a pas son équivalent dans d'autres espèces mais des irritations digestives ont également été décrites chez le chien après un an d'exposition sans que cela soit systématiquement retrouvé dans toutes les études (EFSA, 2017b). Le mécanisme de cancérogénèse chez les murins pour la survenue de tumeurs du pré-estomac serait lié à l'irritation et l'inflammation périodique de la muqueuse par le bol alimentaire toxique aboutissant à une nécrose cellulaire et une multiplication cellulaire compensatoire favorisant l'hyperplasie tissulaire (McMahon, 1998). Il existe de fortes interrogations quant à l'applicabilité et la pertinence de l'apparition de tumeurs du pré-estomac chez les murins pour d'autres espèces et en particulier chez l'Homme (CIRC, 2003; Wester et Kroes, 1988).

Les seules études solides menées sur les espèces non murines ont été réalisées chez le chien. Une étude non publiée de 1997 citée par l'EFSA (2017b) montre une distribution bien différente du chlorothalonil radiomarqué puisque la radioactivité résiduelle est plus importante au niveau hépatique bien que la présence de radioactivité au niveau rénale se maintienne plus longtemps (48 heures). Après 52 semaines d'exposition, la toxicité du chlorothalonil chez le chien se développe principalement au niveau hépatique et se traduit par une augmentation du poids du foie et une diminution de l'activité des transaminases (EFSA, 2017b). Cette baisse d'activité notamment de l'alanine aminotransférase (ALAT) a été attribuée à un déficit en pyridoxal-5'-phosphate pour lequel les animaux ont été supplémentés. Ceci avait également été observé lors de essais réalisés chez le rat où une supplémentation en pyridoxal-5'-phosphate avait rétabli l'activité de l'ALAT. Un métabolisme accru de la cystéine lors de la prise en charge du toxique pourrait en être la cause (Yamaguchi *et al.*, 1975). La vitamine B6 possède de nombreux rôles physiologiques dont notamment le rôle de co-enzyme (Percudani et Peracchi, 2009) et un tel déficit mène inévitablement à une perturbation du fonctionnement

des nombreuses enzymes et voies métaboliques qui en dépendent (Lima *et al.*, 2006; Yamaguchi *et al.*, 1975). L'accumulation du chlorothalonil au niveau hépatique ajoutée à la spécificité de l'expression des enzymes du métabolisme explique que dans la plupart des études menées sur cette espèce, l'effet toxique est principalement centré sur cet organe bien que le rein soit parfois également ciblé (augmentation du poids du rein notamment dans deux études de 28 et 90 jours sur les cinq études de toxicité menées sur cette espèce) (EFSA, 2017b).

Ainsi, ces données issues d'évaluation sur le long terme du chlorothalonil chez le chien ont montré plutôt une distribution favorisant la survenue d'un effet toxique au niveau hépatique supérieur à la toxicité rénale telle qu'observée parmi les espèces murines. Cet effet toxique n'est à ce jour pas explicité et n'est retrouvé que dans cette espèce non murine, soulignant la variabilité relative à la biotransformation de ce toxique dans l'organisme cible.

3.2.2.4.2. Etudes épidémiologiques sur les effets de l'exposition au chlorothalonil sur la santé humaine

Peu d'études épidémiologiques ont examiné l'association entre une exposition au chlorothalonil et la survenue d'évènements de santé. Les études publiées ont été menées aux États-Unis et se sont intéressées aux cancers pédiatriques (quatre études en Californie) ou aux cancers chez les adultes exposés professionnellement au chlorothalonil (deux études en Iowa et Caroline du Nord).

3.2.2.4.2.1. Exposition au chlorothalonil et cancers pédiatriques

Parmi les études sur les cancers pédiatriques, deux sont des études écologiques (Reynolds *et al.*, 2002 ; Reynolds *et al.*, 2005a), tandis que les deux autres sont des études cas-témoins nichées dans une cohorte (Reynolds *et al.*, 2005b ; Lombardi *et al.*, 2021).

Les niveaux d'exposition au chlorothalonil ont été estimés avec des méthodes similaires dans les quatre études. Ces estimations reposent sur le *Pesticide Use Report* (PUR), une base de données recensant les applications de pesticides agricoles (lieu, date et quantité) en Californie. A partir des données du PUR, de l'adresse des sujets inclus dans les études et d'un système d'information géographique, la quantité de pesticides appliquée autour de la résidence des participants à l'étude a été estimée (quantité exprimée en livres de chlorothalonil appliqués par mile carré). Dans les études écologiques, l'unité géographique d'analyse de l'exposition correspond au quartier dans lequel se trouve la résidence de chaque enfant (Reynolds *et al.*, 2002 ; Reynolds *et al.*, 2005a) ; dans les études cas-témoins emboîtées, une échelle quasi-individuelle (c'est-à-dire ici une zone de 800 à 4000 m de diamètre autour de la résidence) a été retenue (Reynolds *et al.*, 2005b ; Lombardi *et al.*, 2021).

Les cas de cancers pédiatriques ont été identifiés sur le registre des cancers de Californie (6988 cas retenus par Reynolds *et al.*, 2002 ; et 2570 cas par Reynolds *et al.*, 2005a).

Les études écologiques ont investigué les relations entre l'exposition périnatale (période prénatale et premières années de vie) au chlorothalonil et le risque de *i*) cancers tous types confondus (Reynolds *et al.*, 2002), *ii*) leucémies (Reynolds *et al.*, 2002), *iii*) gliomes (Reynolds *et al.*, 2002), *iv*) cancers lymphoprolifératifs (Reynolds *et al.*, 2005a) chez les enfants de moins de 15 ans. Aucune relation significative n'a été mise en évidence entre les niveaux élevés d'exposition et un risque augmenté de cancer à l'échelle de l'unité géographique définie.

Les études cas témoins ont investigué les relations entre l'exposition prénatale au chlorothalonil et le risque de *i*) cancers tous types confondus (Reynolds *et al.*, 2005b), *ii*) leucémies (Reynolds *et al.*, 2005b), *iii*) cancers du système nerveux central (Reynolds *et al.*, 2005b ; Lombardi *et al.*, 2021). La population des cas était constituée d'enfants âgés de 0 à 5 ans, à qui ont été appariés des témoins de même sexe et de même année de naissance, sélectionnés sur le registre de naissance de Californie. Après ajustement sur l'ethnie, l'âge de la mère à la naissance de l'enfant, le sexe, l'année de naissance, le niveau socio-économique et l'exposition à d'autres pesticides de la même classe que le chlorothalonil, les analyses statistiques ont mis en évidence que les enfants chez qui au moins une application de chlorothalonil avait été notifiée dans une zone de 4000 m autour de la résidence de la mère pendant la grossesse avaient un risque significativement plus élevé de présenter un médulloblastome que les enfants chez qui aucune application de chlorothalonil n'avait été reportée (OR= 1,78 - IC_{95%}=[1,15 ; 2,76]) (Lombardi *et al.*, 2021). Aucune autre association statistiquement significative n'a été détectée entre l'exposition prénatale au chlorothalonil et les autres types de cancer.

3.2.2.4.2.2. Exposition professionnelle au chlorothalonil et cancers

Deux études ont été menées dans la cohorte *Agricultural Health Study* pour évaluer l'impact de l'exposition professionnelle au chlorothalonil sur l'incidence de cancers (Mozacchio *et al.*, 2008 ; Landgren *et al.*, 2009). Cette cohorte est constituée de 47 625 travailleurs agricoles recrutés entre 1993 et 1997. A l'inclusion, l'exposition a été évaluée en prenant en compte le nombre de jours d'application du chlorothalonil sur toute la durée de la vie professionnelle et la méthode d'application (port ou non d'équipements individuels de protection (EPI)) (informations recueillies par autoquestionnaire).

Après 10 ans de suivi, aucune relation significative n'a été mise en évidence entre l'exposition professionnelle au chlorothalonil et l'incidence des cancers « tous types confondus », du cancer du poumon, de la prostate et du côlon identifiés sur les registres du cancer des états de l'Iowa et de la Caroline du Nord (Mozacchio *et al.*, 2008).

Parallèlement, dans une sous-population de 679 sujets, après ajustement sur le niveau d'éducation et sur l'exposition à cinq autres pesticides corrélés au chlorothalonil, il a été observé que les travailleurs ayant appliqué au moins une fois du chlorothalonil avaient un risque significativement plus élevé de développer une gammopathie monoclonale (considérée comme un biomarqueur d'hémopathies malignes¹⁵) que les travailleurs n'ayant jamais appliqué du chlorothalonil (OR=2,4 – IC_{95%}=[1,1 ; 5,3]).

3.2.2.4.2.3. Conclusion sur les études épidémiologiques

Les résultats des études épidémiologiques suggèrent que l'exposition prénatale au chlorothalonil pourrait être un facteur de risque de médulloblastome chez l'enfant, et que l'exposition professionnelle au chlorothalonil pourrait être associée à une augmentation du risque de développer une gammopathie monoclonale chez l'adulte.

Néanmoins, les études qui ont exploré ces questions sont majoritairement des études écologiques ou cas témoins qui présentent des niveaux de preuve scientifique faibles. Le risque de biais de classement est important dans l'ensemble des études car l'exposition a été estimée de manière rétrospective avec des méthodes indirectes (systèmes d'information géographique, questionnaire) qui ne prennent pas en compte toutes les sources d'exposition.

¹⁵ Il existe également des dysglobulinémies monoclonales non malignes (cirrhose, inflammation chronique, maladies auto-immunes)

D'autre part, les études s'appuient sur des effectifs de cas relativement faibles, ce qui limite la possibilité d'étudier de manière fine la relation dose-réponse entre l'exposition au chlorothalonil et le risque de cancer associé.

En conclusion, les données épidémiologiques sont rares et accompagnées de limites méthodologiques importantes ; elles ne permettent donc pas actuellement de déterminer s'il existe une association entre l'exposition au chlorothalonil et le risque de cancer chez l'Homme.

Ainsi, les données à disposition soulignent bien l'existence d'un mécanisme complexe à l'origine des tumeurs rénales observées parmi les espèces murines. Les données chez l'Homme restent rares et difficilement exploitables.

3.2.2.4.3. Pertinence du mécanisme cancérigène pour le métabolite R471811 du chlorothalonil

Dans l'argumentaire fourni par le déclarant, ce dernier indique que le métabolite R471811 appartient au groupe des acides sulfoniques ayant déjà subi une déchloration par le glutathion suivie d'une oxydation en acide sulfonique en position C4 et une hydrolyse du nitrile en un amide en position C1 ou C3. Par rapport à la molécule de référence de ce groupe (métabolite R417888 du chlorothalonil), la présence d'un groupement plus polaire (groupement amide au détriment d'un nitrile) laisse supposer une moins bonne absorption de la molécule par l'organisme et une capacité d'excrétion augmentée, limitant d'éventuels effets toxiques associés à ce métabolite (EFSA, 2017a et 2017b).

Concernant le mécanisme néphrotoxique, le CES « Eaux » considère, à l'instar du déclarant, qu'il semble peu probable que ce composé puisse suivre le mécanisme toxique décrit précédemment :

- Le métabolite R471811 montre une réactivité pour le glutathion 3,3 millions de fois plus faible que celle de la SA¹⁶.
- Les enzymes microsomales hépatiques du rat SD et de l'Homme n'ont pas formé d'espèces réactives médiées par la β -lyase à partir des métabolites R417888, R418503, R419492, R471811, R613636, R611968, SYN507900, SYN548008 et SYN548581 du chlorothalonil¹⁷.

Ces résultats montrent donc une très faible activité avec le glutathion et aucune réactivité entre la β -lyase et le métabolite R471811. Il est donc fort peu probable que le mécanisme d'action induisant des effets cancérigènes chez les rongeurs de la SA chlorothalonil soit effectif pour le métabolite R471811.

3.2.2.4.4. Conclusion relative à l'examen de la cancérogénicité du métabolite R471811 du chlorothalonil.

Suite à l'analyse des nouvelles données transmises par le déclarant et à la recherche bibliographique réalisée en complément par les experts, le CES « Eaux » note, concernant la SA chlorothalonil :

¹⁶ Étude fournie par le déclarant sur la réactivité du chlorothalonil et des métabolites R182281, R417492 et R471811 sur le glutathion (2001)

¹⁷ Étude *in vitro* fournie par le déclarant conçue pour évaluer d'une part, le métabolisme par la β -lyase du chlorothalonil et de ses conjugués-S-cystéine dans les fractions subcellulaires rénales (S9) du rat et de l'Homme et d'autre part, le métabolisme de plusieurs métabolites du chlorothalonil par des microsomes hépatiques de rat et humains (2020)

- l'existence d'un mode d'action complexe de cancérogénèse pour la SA chlorothalonil mis en lien spécifiquement avec la survenue de cancers rénaux ;
- la dépendance du mécanisme d'action lié aux différences d'expression tissulaire pour certaines enzymes comme la γ -GT ou la β -lyase ;
- l'incidence de cancers rénaux significative chez le rat ou la souris et la survenue d'autres pathologies spécifiques d'espèces, comme les cancers du pré-estomac chez les espèces murines ou la toxicité hépatique chez le chien ;
- l'absence d'étude à ce jour permettant de démontrer ou réfuter l'implication d'un autre mécanisme d'action pour la SA chlorothalonil.

Concernant le métabolite R471811 du chlorothalonil, le CES « Eaux » note :

- l'absence de données *in vitro* soulignant un potentiel génotoxique et mutagène (trois tests négatifs), contrairement à la SA chlorothalonil ;
- l'absence d'information *in vivo* disponible sur son aspect génotoxique et mutagène ;
- l'appartenance de ce métabolite au groupe des acides sulfoniques ayant déjà subi une déchloration et une oxydation en acide sulfonique en C4 et une hydrolyse du nitrile en un amide en position C1 ou C3 ;
- un devenir dans l'organisme spécifique, ses caractéristiques structurales limitant son absorption par l'organisme et favorisant son excrétion rapide de l'organisme par rapport à celle de la SA ;
- une structure ne montrant aucune implication dans le seul mécanisme décrit *in vivo* pour la SA chlorothalonil responsable de l'action néphrotoxique et cancérogène pour le rein de cette dernière.

Ainsi, au vu des données disponibles, les experts considèrent que ce métabolite ne partage très probablement pas le mode d'action néphrotoxique de la SA chlorothalonil.

En conclusion, selon la méthodologie exposée dans l'avis du 30 janvier 2019 (Anses 2019), considérant l'ensemble des informations étayées, appuyées par les nouveaux éléments apportés par le déclarant et la recherche bibliographique menée en complément par les rapporteurs, le CES « Eaux » considère, que le métabolite R471811 du chlorothalonil n'est pas classé comme un métabolite pertinent au titre de cette étape.

L'évaluation de la pertinence pour les EDCH a donc été poursuivie.

3.2.2.5. Examen du potentiel de perturbation endocrinienne

Aucune étude dédiée à la recherche d'un potentiel de perturbation endocrinienne (PE) du métabolite R471811 n'a été identifiée tant dans la bibliographie que dans les rapports d'évaluation européens.

En l'absence de données sur l'effet potentiel de perturbation endocrinienne du métabolite évalué, le CES « Eaux » a examiné les données disponibles relatives à un potentiel de perturbation endocrinienne de la SA, conformément à la méthodologie exposée dans l'avis du 30 janvier 2019 (Anses 2019).

Concernant la SA chlorothalonil, celle-ci n'a pas fait l'objet d'une évaluation réglementaire réalisée suivant le document d'orientation EFSA/ECHA (2018). Néanmoins, l'EFSA a mené un examen de toutes les données pertinentes concernant la perturbation endocrinienne potentielle chez les mammifères. Le chlorothalonil a fait l'objet de nombreux essais, et les

données pertinentes provenant des études réglementaires et de la littérature scientifique ouverte couvrent un large éventail de types d'études *in silico*, *in vitro* et *in vivo*. Ces données couvrent les niveaux de preuve 1 à 5¹⁸ décrits dans le guide de l'OCDE (OCDE, 2012). Après une évaluation individuelle de chacune des études pertinentes et examen du poids des preuves, l'EFSA conclut dans le RAR (EFSA, 2017b) que le chlorothalonil ne peut pas être considéré comme un perturbateur endocrinien tel que défini par l'OMS/IPCS (2002).

Il est ainsi conclu dans l'EFSA journal (EFSA, 2018) que, selon la méthodologie employée, il est peu probable que le chlorothalonil présente des propriétés de perturbation endocrinienne en ce qui concerne les modalités de l'EATS¹⁹ (OCDE, 2012, Comité scientifique de l'EFSA, 2013). Par ailleurs, peu de données semblent être venues s'ajouter depuis cette évaluation qui permettraient d'étayer un potentiel perturbateur endocrinien de la SA chlorothalonil. Les quelques études à disposition issues de la recherche bibliographique menée en complément par les experts du CES « Eaux » sont encore trop peu nombreuses d'autant qu'elles sont davantage orientées vers la recherche de la cause d'effets reprotoxiques observés lors de l'exposition à la SA *in vivo* (Hao *et al.*, 2019 ; Li *et al.*, 2020 ; Zhang *et al.*, 2019).

Ainsi, considérant l'évaluation menée par l'EFSA (2017b) et au regard du faible nombre de données disponibles lors de la recherche bibliographique complémentaire réalisée, le CES « Eaux » considère, à l'instar de l'EFSA qu'il est peu probable que le chlorothalonil présente des propriétés susceptibles de perturber le système endocrinien.

En conclusion, selon la méthodologie exposée dans l'avis du 30 janvier 2019 (saisine n°2015-SA-0252), le CES « Eaux » considère que le métabolite R471811 du chlorothalonil n'est pas classé comme un métabolite pertinent au titre de cette étape.

L'évaluation de la pertinence pour les EDCH est donc poursuivie.

3.2.2.6. Évaluation de la transformation potentielle dans la filière de traitement EDCH

Aucune information sur l'évaluation de la transformation du métabolite R471811 en un produit dangereux pour la santé humaine dans les filières de traitement EDCH n'a été retrouvée dans le RAR.

Selon la méthodologie exposée dans l'avis du 30 janvier 2019 (Anses 2019), pour un métabolite de SA d'un produit phytopharmaceutique, « *dans le cas où l'évaluation au niveau européen n'a pas été réalisée, il est proposé d'examiner les données disponibles : si les éléments mettent en évidence la possible transformation du métabolite en un produit dangereux pour la santé humaine dans les filières de traitement EDCH, le métabolite sera*

¹⁸ Niveau 1 : Analyse des données existantes ; Niveau 2 : Essais *in vitro* fournissant des données sur des mécanismes endocriniens uniques ; Niveau 3 : Essais *in vivo* fournissant des données sur des mécanismes endocriniens uniques ; Niveau 4 : Essais *in vivo* fournissant des données sur les effets néfastes sur les paramètres endocriniens pertinents ; Niveau 5 : Essais *in vivo* fournissant des données plus complètes sur des parties plus étendues du cycle de vie des organismes

¹⁹ Œstrogénique, androgénique, thyroïdienne, stéroïdogénèse.

classé « pertinent pour les EDCH ». Dans le cas contraire, le métabolite sera classé « non pertinent dans les EDCH » ».

Une recherche bibliographique a été menée afin d'examiner les données disponibles.

Les valeurs des constantes cinétiques de réaction de l'ozone moléculaire ($< 0,04 \text{ M}^{-1} \cdot \text{s}^{-1}$) et du radical hydroxyle ($< 5 \times 10^7 \text{ M}^{-1} \cdot \text{s}^{-1}$) sur le métabolite R471811 du chlorothalonil et les valeurs du rendement quantique de photolyse ($\Phi_{254\text{nm}}$) et du produit $\varepsilon_{254\text{nm}} \cdot \Phi_{254\text{nm}}$ du métabolite R471811 à 254 nm ($\Phi_{254\text{nm}} < 0,007 \text{ mol} \cdot \text{Einstein}^{-1}$, $\varepsilon_{254\text{nm}} \cdot \Phi_{254\text{nm}} = 5 \text{ (L} \cdot \text{mol}^{-1} \cdot \text{cm}^{-1}) \cdot \text{mol} \cdot \text{Einstein}^{-1}$) déterminées par Kiefer *et al.* (2020) indiquent que ce métabolite ne sera pas dégradé d'une manière significative dans les unités de production d'eau potable lors des traitements d'ozonation et désinfection UV.

En l'état actuel des connaissances, il n'existe pas de données bibliographiques concernant le devenir du métabolite R471811 du chlorothalonil lors de la désinfection finale par le chlore.

Compte tenu de la présence de deux groupes amide primaire (RCONH_2) dans la structure du métabolite R471811 et des connaissances concernant la réactivité du chlore libre (HOCl et ClO^-) sur des amides (Zhang et von Gunten, 2023), il est très probable que la chloration d'eau contenant du métabolite R471811 conduise à la formation lente de N-chloroamides et de N,N-dichloroamides (RCONHCl et RCONCl_2). Ces auteurs ont aussi montré que ces chloroamides redonnent la molécule parent après addition de thiosulfate de sodium. Lors des analyses de contrôle sanitaire, les N-chloroamides et N,N-dichloroamides peuvent alors ne plus être détectés dans les échantillons d'EDCH chlorée après l'addition d'un réducteur du chlore libre (comme le thiosulfate de sodium). Des études complémentaires s'avèrent encore nécessaires afin de préciser la cinétique de réaction du chlore libre sur le métabolite R471811 du chlorothalonil et la stabilité des éventuels sous-produits de transformation.

En conclusion, selon la méthodologie exposée dans l'avis du 30 janvier 2019 (saisine n°2015-SA-0252), en l'absence de données suffisantes sur le devenir du métabolite R471811 du chlorothalonil dans les filières de traitement EDCH, le CES « Eaux » considère qu'il n'est pas classé comme un métabolite pertinent au titre de cette étape.

3.2.2.7. Conclusion du CES « Eaux » sur la pertinence du métabolite R471811 du chlorothalonil

Sur la base des données du rapport d'évaluation européen, des nouveaux éléments fournis par le déclarant relatifs à l'évaluation de l'éventuelle cancérogénicité du métabolite, et de la recherche bibliographique réalisée en complément, et selon le schéma d'évaluation de détermination de la pertinence dans les EDCH, le métabolite R471811 du chlorothalonil est considéré comme un métabolite « non pertinent pour les EDCH ».

4. CONCLUSIONS ET RECOMMANDATIONS DE L'AGENCE

L'Agence nationale de sécurité sanitaire de l'alimentation, de l'environnement et du travail a été saisie par la Direction générale de la santé pour examiner le caractère « pertinent pour les EDCH » ou « non pertinent pour les EDCH » du métabolite R417888 du chlorothalonil, et réexaminer celui du métabolite R471811 de cette même substance. Ces évaluations ont été réalisées en appliquant la méthodologie élaborée par l'Agence dans le cadre de son avis du 30 janvier 2019, sur la base des données disponibles issues du dossier européen de ré approbation du chlorothalonil, de la recherche bibliographique réalisée par les experts, ainsi que, pour le métabolite R471811, des nouvelles données fournies par Syngenta, titulaire d'autorisations – échues à ce jour – de produits à base de la substance active chlorothalonil.

Les modalités d'évaluation des données scientifiques et les critères de décision permettant aux experts de statuer sur la pertinence suite à l'analyse de ces données sont détaillés dans cette méthodologie. Les différentes étapes de celle-ci sont rappelées dans le schéma d'évaluation en annexe 1.

L'Agence adopte les conclusions du GT « ERS EDCH » et du CES « Eaux ». L'Anses rappelle que cet avis constitue le résultat d'une évaluation scientifique et donc une proposition de classement dans le cadre des dispositions de contrôle sanitaire et de surveillance de la qualité des eaux destinées à la consommation humaine.

S'agissant du métabolite R417888 du chlorothalonil, l'examen des données disponibles n'a pas permis d'exclure l'existence d'un potentiel génotoxique de ce dernier, conduisant à proposer son classement comme « pertinent pour les EDCH ». En particulier, les résultats positifs observés lors des études menées *in vitro* sont considérés comme plus robustes que ceux négatifs obtenus dans l'essai *in vivo* au regard des choix faits dans la conduite de ce dernier.

S'agissant du métabolite R471811, une première expertise avait conduit l'Agence à le considérer comme « pertinent pour les EDCH » (avis de l'Anses du 26 janvier 2022) à l'étape du schéma d'évaluation relative à l'examen de la cancérogénicité. En l'absence de données disponibles sur ce métabolite, les éventuels effets cancérogènes de la SA parente, le chlorothalonil, avaient été pris en compte. Sur la base de la proposition de classement par l'EFSA de la SA en cancérogène de catégorie 1B²⁰ et en l'absence de données permettant de démontrer que le métabolite R471811 ne partageait pas le mode d'action de la SA parente, la pertinence de ce dernier a été proposée.

L'analyse des connaissances nouvelles, intégrant des données fournies par le déclarant et la recherche bibliographique réalisée par les experts, a permis de considérer que ce métabolite ne partage très probablement pas le mode d'action néphrotoxique du chlorothalonil. A l'issue de l'évaluation de l'ensemble des étapes de la méthodologie (Anses, 2019) le classement proposé pour le métabolite R471811 du chlorothalonil est « non pertinent pour les EDCH ».

²⁰ Au titre du règlement CLP

Les conclusions de cette expertise ont pour objectif d'appuyer les autorités sanitaires (Direction générale de la santé et Agences régionales de santé) dans leurs décisions à ce sujet. Pour rappel, les valeurs réglementaires qui s'appliquent dans le cadre du contrôle sanitaire et de la surveillance des EDCH sont :

- une limite de qualité de 0,1 µg/L pour les métabolites pertinents ;
- une valeur indicative de 0,9 µg/L pour les métabolites non pertinents.

Pr Benoit Vallet

MOTS-CLÉS

Pesticides, métabolite, pertinence, EDCH, eau de boisson, chlorothalonil R471811, chlorothalonil R417888.

Pesticides, metabolite, relevant, drinking-water, chlorothalonil R471811, chlorothalonil R417888.

BIBLIOGRAPHIE

Publications

- Anses. 2019. « Avis de l'Anses du 30 janvier 2019 relatif à l'évaluation de la pertinence des métabolites de pesticides dans les eaux destinées à la consommation humaine. » (saisine 2015-SA-0152) Maisons-Alfort : Anses, 101 p.
- Anses. 2022. « Avis de l'Anses relatif à la détermination de la pertinence pour les eaux destinées à la consommation humaine pour les métabolites de pesticide : chlorothalonil R471811, 2,6-dichlorobenzamide, diméthénamide ESA et diméthénamide OXA. » (saisine 2021-SA-0020-b). Maisons-Alfort : Anses, 31 p.
- Anses. 2023. « Campagne nationale de mesure de l'occurrence de composés émergents dans les eaux destinées à la consommation humaine - Pesticides et métabolites de pesticides – Résidus d'explosifs – 1,4-dioxane - Campagne 2020-2022. » <https://www.anses.fr/fr/system/files/LABORATOIRE2022AST0255Ra.pdf>
- Boobis, Alan R., Samuel M. Cohen, Vicki Dellarco, Douglas McGregor, M. E. (Bette) Meek, Carolyn Vickers, Deborah Willcocks, et William Farland. 2006. « IPCS Framework for Analyzing the Relevance of a Cancer Mode of Action for Humans ». *Critical Reviews in Toxicology* 36 (10): 781-92. <https://doi.org/10.1080/10408440600977677>.
- CIRC. 2003. Predictive Value of Rodent Forestomach and Gastric Neuroendocrine Tumours in Evaluating Carcinogenic Risks to Humans. Vol. 39. <https://publications.iarc.fr/Book-And-Report-Series/Iarc-Technical-Publications/Predictive-Value-Of-Rodent-Forestomach-And-Gastric-Neuroendocrine-Tumours-In-Evaluating-Carcinogenic-Risks-To-Humans-2003>.
- Cooper, A.J.L., et M.H. Hanigan. 2018. « Metabolism of Glutathione S-Conjugates: Multiple Pathways ». *Comprehensive Toxicology*, 363-406. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-801238-3.01973-5>.
- Cooper, Arthur J. L., Boris F. Krasnikov, Zoya V. Niatsetskaya, John T. Pinto, Patrick S. Callery, Maria T. Villar, Antonio Artigues, et Sam A. Bruschi. 2011. « Cysteine S-Conjugate β -Lyases: Important Roles in the Metabolism of Naturally Occurring Sulfur and Selenium-Containing Compounds, Xenobiotics and Anticancer Agents ». *Amino Acids* 41 (1): 7-27. <https://doi.org/10.1007/s00726-010-0552-0>.
- Cooper, Arthur J. L., Boris F. Krasnikov, John T. Pinto, et Sam A. Bruschi. 2010. « Cysteine S-conjugate β -lyases ». *Current protocols in toxicology / editorial board, Mahin D. Maines (editor-in-chief) ... [et al.]* CHAPTER (mai): Unit-4.36. <https://doi.org/10.1002/0471140856.tx0436s44>.
- Dekant, R., R. Bertermann, J. Serban, S. Sharma, M. Shinohara, Y. Morizawa, H. Okamoto, W. Brock, W. Dekant, et A. Mally. 2023. « Species-Differences in the in Vitro Biotransformation of Trifluoroethene (HFO-1123) ». *Archives of Toxicology* 97 (12): 3095-3111. <https://doi.org/10.1007/s00204-023-03603-3>.
- Dekant, W. 2001. « Chemical-Induced Nephrotoxicity Mediated by Glutathione S-Conjugate Formation ». *Toxicology Letters* 124 (1-3): 21-36. [https://doi.org/10.1016/S0378-4274\(00\)00285-X](https://doi.org/10.1016/S0378-4274(00)00285-X).

- ECHA/EFSA. 2018. « Guidance for the Identification of Endocrine Disruptors in the Context of Regulations (EU) No 528/2012 and (EC) No 1107/2009 ». *EFSA Journal. European Food Safety Authority* 16 (6): e05311. <https://doi.org/10.2903/j.efsa.2018.5311>.
- EFSA. 2017a. Renewal Assessment Report and Proposed decision prepared according to the Commission Regulation (EU) n°1107/2009 – Rapporteur Member State : The Netherlands. Chlorothalonil_RAR_01_Vol 1 – Non publié.
- EFSA. 2017b. Renewal Assessment Report and Proposed decision prepared according to the Commission Regulation (EU) n°1107/2009 – Rapporteur Member State : The Netherlands. Chlorothalonil_RAR_09_Vol 3_B6a – Non publié.
- EFSA. 2017c. Renewal Assessment Report and Proposed decision prepared according to the Commission Regulation (EU) n°1107/2009 – Rapporteur Member State : The Netherlands. Chlorothalonil_RAR_09_Vol 3_B6b – Non publié.
- EFSA. 2017d. Renewal Assessment Report and Proposed decision prepared according to the Commission Regulation (EU) n°1107/2009 – Rapporteur Member State : The Netherlands. Chlorothalonil_RAR_09_Vol 3_B9 – Non publié.
- EFSA. (European Food Safety Authority) Maria Arena, Domenica Auteri, Stefania Barmaz, Giulia Bellisai, Alba Brancato, Daniela Brocca, et al. 2018. « Peer Review of the Pesticide Risk Assessment of the Active Substance Chlorothalonil ». *EFSA Journal* 16 (1). <https://doi.org/10.2903/j.efsa.2018.5126>.
- EFSA Scientific Committee, 2013. « Scientific Opinion on the hazard assessment of endocrine disruptors: scientific criteria for identification of endocrine disruptors and appropriateness of existing test methods for assessing effects mediated by these substances on human health and the environment. *EFSA Journal* 2013;11(3):3132, 84 pp. <https://doi.org/10.2903/j.efsa.2013.3132>
- Hao, Yanan, Hongfu Zhang, Pengfei Zhang, Shuai Yu, Dongxue Ma, Lan Li, Yanni Feng, Lingjiang Min, Wei Shen, et Yong Zhao. 2019. « Chlorothalonil Inhibits Mouse Ovarian Development through Endocrine Disruption ». *Toxicology Letters* 303 (mars): 38-47. <https://doi.org/10.1016/j.toxlet.2018.12.011>.
- Hinchman, C. A., et N. Ballatori. 1990. « Glutathione-Degrading Capacities of Liver and Kidney in Different Species ». *Biochemical Pharmacology* 40 (5): 1131-35. [https://doi.org/10.1016/0006-2952\(90\)90503-d](https://doi.org/10.1016/0006-2952(90)90503-d).
- Kraus, T., V. Uttamsingh, M. W. Anders, et S. Wolf. 2000. « Porcine Kidney Microsomal Cysteine S-Conjugate N-Acetyltransferase-Catalyzed N-Acetylation of Haloalkene-Derived Cysteine S-Conjugates ». *Drug Metabolism and Disposition: The Biological Fate of Chemicals* 28 (4): 440-45.
- Landgren, Ola, Robert A. Kyle, Jane A. Hoppin, Laura E. Beane Freeman, James R. Cerhan, Jerry A. Katzmann, S. Vincent Rajkumar, et Michael C. Alavanja. 2009. « Pesticide Exposure and Risk of Monoclonal Gammopathy of Undetermined Significance in the Agricultural Health Study ». *Blood* 113 (25): 6386-91. <https://doi.org/10.1182/blood-2009-02-203471>.
- Lash, L H, J W Fisher, J C Lipscomb, et J C Parker. 2000. « Metabolism of trichloroethylene. » *Environmental Health Perspectives* 108 (Suppl 2): 177-200.
- Lash, L. H., R. M. Nelson, R. A. Van Dyke, et M. W. Anders. 1990. « Purification and Characterization of Human Kidney Cytosolic Cysteine Conjugate Beta-Lyase Activity ». *Drug Metabolism and Disposition: The Biological Fate of Chemicals* 18 (1): 50-54.
- Li, Huatao, Pengfei Zhang, Yong Zhao, et Hongfu Zhang. 2020. « Low doses of carbendazim and chlorothalonil synergized to impair mouse spermatogenesis through epigenetic pathways ». *Ecotoxicology and Environmental Safety* 188 (janvier): 109908. <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2019.109908>.

- Lima, Carolina P, Steven R Davis, Amy D Mackey, Jennifer B Scheer, Jerry Williamson, et Jesse F Gregory. 2006. « Vitamin B-6 Deficiency Suppresses the Hepatic Transsulfuration Pathway but Increases Glutathione Concentration in Rats Fed AIN-76A or AIN-93G Diets¹ ». *The Journal of Nutrition* 136 (8): 2141-47. <https://doi.org/10.1093/jn/136.8.2141>.
- Lombardi, Christina, Shiraya Thompson, Beate Ritz, Myles Cockburn, et Julia E. Heck. 2021. « Residential Proximity to Pesticide Application as a Risk Factor for Childhood Central Nervous System Tumors ». *Environmental Research* 197 (juin): 111078. <https://doi.org/10.1016/j.envres.2021.111078>.
- McMahon, Dr Timothy F. 1998. « Carcinogenicity of Chlorothalonil: Data in Support of a Non-Linear Mechanism for Carcinogenicity », juillet. https://search.epa.gov/epasearch/?querytext=43653609&inmeta=specialcollection_s%7ELegacy%2BCollection&typeofsearch=epa&result_template=archive.ftl#.
- Mozzachio, Alicia M., Jennifer A. Rusiecki, Jane A. Hoppin, Rajeev Mahajan, Rahul Kumar Patel, Laura Beane-Freeman, et Michael C. R. Alavanja. 2008. « Chlorothalonil Exposure and Cancer Incidence among Pesticide Applicator Participants in the Agricultural Health Study ». *Environmental Research* 108 (3): 400-403. <https://doi.org/10.1016/j.envres.2008.07.018>.
- NTP (National Toxicology Program. 1978. « Bioassay of Chlorothalonil for Possible Carcinogenicity ». *National Cancer Institute Carcinogenesis Technical Report Series* 41: 1-94.
- OCDE. 2012. « Series on Testing and Assessment: No 150: Guidance document on Standardised Test Guidelines for Evaluating Chemicals for Endocrine Disruption. » ENV/JM/MONO(2012)22, 524 pp.
- OMS/IPCS Global Assessment of the State-of-the-Science of Endocrine Disruptors. WHO/PCS/EDC/02.2.2002 http://www.who.int/ipcs/publications/new_issues/endocrine_disruptors/en/
- Percudani, Riccardo, et Alessio Peracchi. 2009. « The B6 database: a tool for the description and classification of vitamin B6-dependent enzymatic activities and of the corresponding protein families ». *BMC Bioinformatics* 10 (1): 273. <https://doi.org/10.1186/1471-2105-10-273>.
- Rankin, Gary O., Kelly W. Beers, Derek W. Nicoll, Dianne K. Anestis, Suk K. Hong, John L. Hubbard, John G. Ball, Monica A. Valentovic, et Patrick I. Brown. 1996. « Nephrotoxic potential of 2-amino-5-chlorophenol and 4-amino-3-chlorophenol in Fischer 344 rats: comparisons with 2- and 4-chloroaniline and 2- and 4-aminophenol ». *Toxicology* 108 (1): 109-23. [https://doi.org/10.1016/0300-483X\(95\)03294-P](https://doi.org/10.1016/0300-483X(95)03294-P).
- Reynolds, P., J. Von Behren, R. Gunier, D. E. Goldberg, et A. Hertz. 2005. « Agricultural pesticides and lymphoproliferative childhood cancer in California ». *Scandinavian Journal of Work, Environment & Health* 31 (1): 46-54.
- Reynolds, Peggy, Julie Von Behren, Robert B. Gunier, Debbie E. Goldberg, Martha Harnly, et Andrew Hertz. 2005. « Agricultural Pesticide Use and Childhood Cancer in California ». *Epidemiology* 16 (1): 93. <https://doi.org/10.1097/01.ede.0000147119.32704.5c>.
- Reynolds, Peggy, Julie Von Behren, Robert B Gunier, Debbie E Goldberg, Andrew Hertz, et Martha E Harnly. 2002. « Childhood cancer and agricultural pesticide use: an ecologic study in California. » *Environmental Health Perspectives* 110 (3): 319-24.

- Rooseboom, Martijn, Nico P. E. Vermeulen, Ed J. Groot, et Jan N. M. Commandeur. 2002. « Tissue Distribution of Cytosolic Beta-Elimination Reactions of Selenocysteine Se-Conjugates in Rat and Human ». *Chemico-Biological Interactions* 140 (3): 243-64. [https://doi.org/10.1016/s0009-2797\(02\)00039-x](https://doi.org/10.1016/s0009-2797(02)00039-x).
- Shaw, L. M., J. W. London, et L. E. Petersen. 1978. « Isolation of Gamma-Glutamyltransferase from Human Liver, and Comparison with the Enzyme from Human Kidney ». *Clinical Chemistry* 24 (6): 905-15.
- Stevens, James L. 1985. « Cysteine conjugate β -lyase activities in rat kidney cortex: Subcellular localization and relationship to the hepatic enzyme ». *Biochemical and Biophysical Research Communications* 129 (2): 499-504. [https://doi.org/10.1016/0006-291X\(85\)90179-2](https://doi.org/10.1016/0006-291X(85)90179-2).
- Townsend, Danyelle M., et Marie H. Hanigan. 2002. « Inhibition of Gamma-Glutamyl Transpeptidase or Cysteine S-Conjugate Beta-Lyase Activity Blocks the Nephrotoxicity of Cisplatin in Mice ». *The Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics* 300 (1): 142-48. <https://doi.org/10.1124/jpet.300.1.142>.
- Uttamsingh, V., R. B. Baggs, D. M. Krenitsky, et M. W. Anders. 2000. « Immunohistochemical Localization of the Acylases That Catalyze the Deacetylation of N-Acetyl-L-Cysteine and Haloalkene-Derived Mercapturates ». *Drug Metabolism and Disposition: The Biological Fate of Chemicals* 28 (6): 625-32.
- Wester, P. W., et R. Kroes. 1988. « Forestomach Carcinogens: Pathology and Relevance to Man ». *Toxicologic Pathology* 16 (2): 165-71. <https://doi.org/10.1177/019262338801600209>.
- Wilkinson, C. F., et J. C. Killeen. 1996. « A Mechanistic Interpretation of the Oncogenicity of Chlorothalonil in Rodents and an Assessment of Human Relevance ». *Regulatory Toxicology and Pharmacology* 24 (1): 69-84. <https://doi.org/10.1006/rtph.1996.0065>.
- Yamaguchi, K., S. Shigehisa, S. Sakakibara, Y. Hosokawa, et I. Ueda. 1975. « Cysteine Metabolism in Vivo of Vitamin B6-Deficient Rats ». *Biochimica Et Biophysica Acta* 381 (1): 1-8. [https://doi.org/10.1016/0304-4165\(75\)90182-8](https://doi.org/10.1016/0304-4165(75)90182-8).
- Yamauchi, Aiko, Nobuhiko Ueda, Sayuri Hanafusa, Eri Yamashita, Masaru Kihara, et Shinsaku Naito. 2002. « Tissue Distribution of and Species Differences in Deacetylation of N-Acetyl-L-Cysteine and Immunohistochemical Localization of Acylase I in the Primate Kidney ». *The Journal of Pharmacy and Pharmacology* 54 (2): 205-12. <https://doi.org/10.1211/0022357021778394>.
- Zhang, Pengfei, Yong Zhao, Hongfu Zhang, Jing Liu, Yanni Feng, Shen Yin, Shunfeng Cheng, et al. 2019. « Low dose chlorothalonil impairs mouse spermatogenesis through the intertwining of Estrogen Receptor Pathways with histone and DNA methylation ». *Chemosphere* 230 (septembre): 384-95. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2019.05.029>.
- Zhang, Tianqi, et Urs von Gunten. 2023. « Chlorination of amides: Kinetics and mechanisms of formation of N-chloramides and their reactions with phenolic compounds ». *Water Research* 242 (août): 120131. <https://doi.org/10.1016/j.watres.2023.120131>.

Normes

- OCDE. 1997a. Essai n° 471. Ligne directrice de l'OCDE pour les essais de produits chimiques - Essai de mutation réversible sur des bactéries. Organisation de Coopération et de Développement Économiques (OCDE).
- OCDE. 1997b, Essai n° 473: Essai d'aberration chromosomique *in vitro* chez les mammifères, Éditions OCDE, Paris, <https://doi.org/10.1787/9789264071278-fr>.
- OCDE. 1997c, Essai n° 474: Le test de micronoyaux sur les érythrocytes de mammifères, Éditions OCDE, Paris, <https://doi.org/10.1787/9789264071292-fr>.
- OCDE. 1997d. Essai n° 476. Lignes directrices de l'OCDE pour les essais de produits chimiques - Essais *in vitro* de mutation génique sur cellules de mammifères utilisant les gènes HPRT et XPRT. Organisation de Coopération et de Développement Économiques (OCDE).
- OCDE. 1997e. Essai n° 486 : Essai de synthèse non programmée de l'ADN (UDS) sur des hépatocytes de mammifères *in vivo*, Lignes directrices de l'OCDE pour les essais de produits chimiques, Section 4, Éditions OCDE, Paris
- OCDE. 2016. Essai n° 490 : Essai *In Vitro* de Mutation Génique Sur Cellules de Mammifères Utilisant le Gène de la Thymidine Kinase, Lignes directrices de l'OCDE pour les essais de produits chimiques, Section 4, OECD Publishing, Paris.

Législation et réglementation

Règlement (CE) n° 1272/2008 du Parlement européen et du Conseil du 16 décembre 2008 relatif à la classification, à l'étiquetage et à l'emballage des substances et des mélanges, modifiant et abrogeant les directives 67/548/CEE et 1999/45/CE et modifiant le règlement (CE) n° 1907/2006.

Règlement d'exécution (UE) n° 2019/677 de la Commission du 29 avril 2019 concernant le non-renouvellement de l'approbation de la substance active chlorothalonil, conformément au règlement (CE) n° 1107/2009 du Parlement européen et du Conseil concernant la mise sur le marché des produits phytopharmaceutiques, et modifiant le règlement d'exécution (UE) n° 540/2011 de la Commission.

Directive 2000/32/CE de la commission du 19 mai 2000 portant vingt-sixième adaptation au progrès technique de la directive 67/548/CEE du Conseil concernant le rapprochement des dispositions législatives, réglementaires et administratives relatives à la classification, l'emballage et l'étiquetage des substances dangereuses

Directive 2020/2184 du Parlement européen et du Conseil du 16 décembre 2020 relative à la qualité des eaux destinées à la consommation humaine. Journal officiel de l'Union européenne. L435 du 23 décembre 2020, p1-62.

Arrêté du 11 janvier 2007 modifié relatif aux limites et références de qualité des eaux brutes et des eaux destinées à la consommation humaine mentionnées aux articles R1321-2, R1321-3, R1321-7 et R1321-38 du code de la santé publique.

CITATION SUGGÉRÉE

Anses. (2024). Avis de l'Anses relatif à l'examen du classement de la pertinence pour le métabolite chlorothalonil R417888 et au réexamen du classement de la pertinence pour le métabolite chlorothalonil R471811 dans les eaux destinées à la consommation humaine (saisines 2023-SA-0041-a et -0142-a). Maisons-Alfort : Anses, 39 p.

ANNEXE 1 – SCHÉMA D'ÉVALUATION DE LA PERTINENCE DES MÉTABOLITES DE PESTICIDES POUR LES EDCH

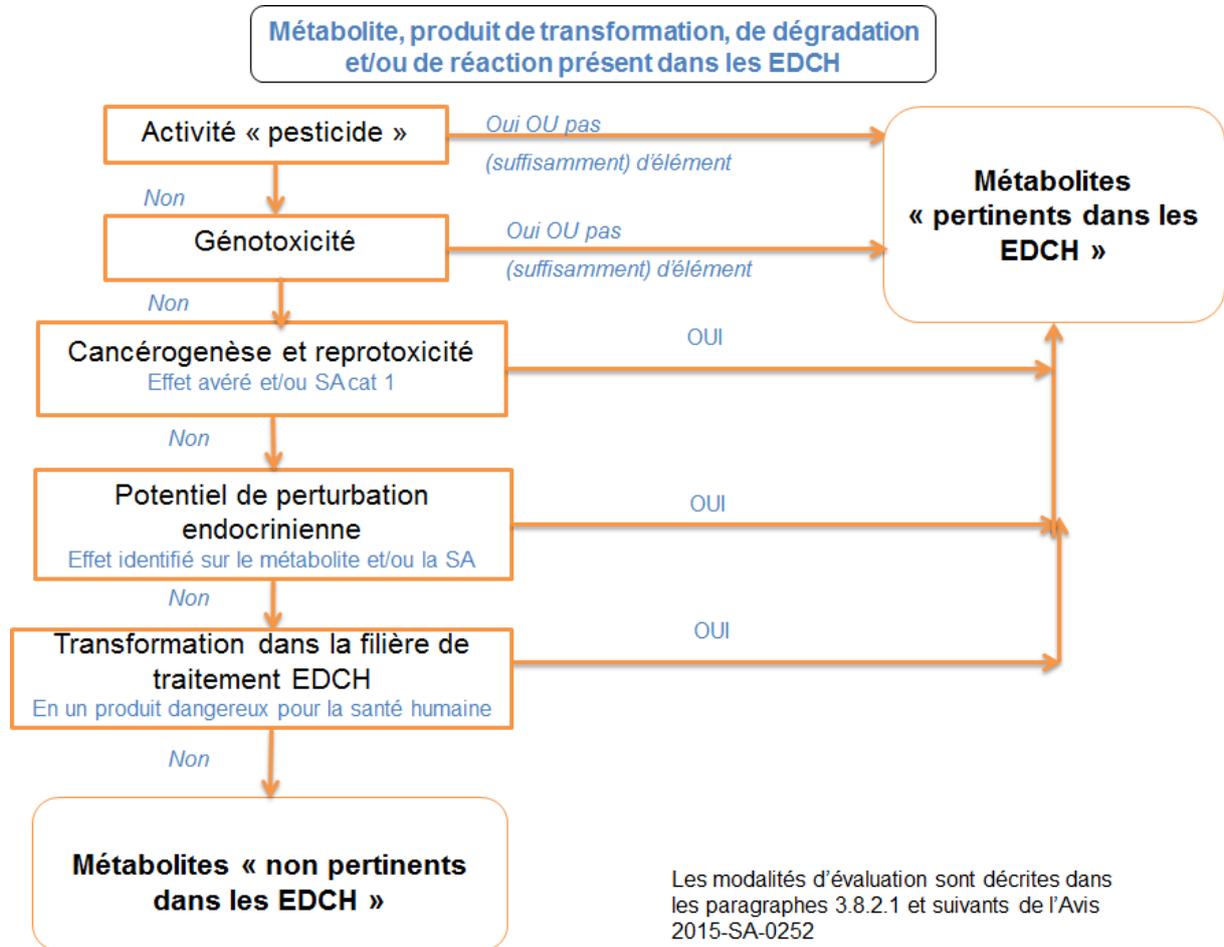


Figure 1 : Schéma d'évaluation de la pertinence des métabolites de pesticide pour les EDCH (d'après l'avis de l'Anses 2015-SA-0252 du 30 janvier 2019).

ANNEXE 2 – PRÉSENTATION DES INTERVENANTS

PRÉAMBULE : Les experts membres de comités d'experts spécialisés, de groupes de travail ou désignés rapporteurs sont tous nommés à titre personnel, intuitu personae, et ne représentent pas leur organisme d'appartenance.

GROUPE DE TRAVAIL « ERS EDCH III » (2020-2023)

Président

M. Michel JOYEUX – Médecin toxicologue, retraité d'Eau de Paris et de l'École Pratique des Hautes Études (EPHE) - Compétences : toxicologie, évaluation quantitative des risques sanitaires et méthode d'analyse des dangers, chimie de l'eau, produits et procédés de traitement des EDCH, santé environnementale.

Membres

Mme Aurore COLLIN – Pharmacien toxicologue, Maître de conférence à l'Université Clermont-Auvergne - Compétences : toxicologie (hépatotoxicité, neurotoxicité, génotoxicité), évaluation quantitative des risques sanitaires, valeurs toxicologiques de référence.

M. Fabrice DASSONVILLE – *Démission en juillet 2023* – Ingénieur du génie sanitaire, responsable régional du domaine des eaux / périnatalité et santé environnement / air extérieur (pollens et allergies) / pesticides à l'Agence Régionale de Santé de Provence Alpes Côte d'Azur (ARS PACA) - Compétences : santé environnementale, évaluation et gestion des risques sanitaires (risques chimiques et bactériologiques), EDCH, base de données SISE-Eaux.

M. Joseph DE LAAT – Professeur des universités en chimie, retraité de l'Université de Poitiers - Compétences : chimie des eaux, traitement des eaux (oxydation chimique, adsorption sur charbon actif, désinfection et photolyse UV, procédés membranaires), cinétique chimique, conception et dimensionnement de stations d'épuration.

Mme Isabelle DUBLINEAU – Ingénieur évaluation des risques radiologiques à l'Institut de Radioprotection et de Sûreté Nucléaire (IRSN) - Compétences : radiotoxicologie (système digestif, néphrotoxicité), EDCH, contamination environnementale.

Mme Barbara LE BOT – Professeur des Universités en chimie analytique à l'École des Hautes Études en Santé Publique (EHESP) - Compétences : constituants et contamination des eaux transferts et devenir dans l'environnement, évaluation des expositions, analyses des eaux (polluants émergents, contrôle sanitaire des EDCH), santé environnementale.

Mme Marion MORTAMAI – Vétérinaire épidémiologiste, chercheur postdoctoral au Centre Hospitalier Universitaire (CHU) de Montpellier - Compétences : épidémiologie, statistiques, neurotoxicité.

M. Christophe ROSIN – Unité chimie des eaux - Laboratoire d'Hydrologie de Nancy (LHN), Anses – Compétences : chimie des eaux, analyses chimiques des eaux (développement et validation de méthodes, éléments minéraux, micropolluants organiques, prélèvements d'eau).

Mme Marie-Pierre SAUVANT-ROCHAT – Pharmacien, Professeur des Universités en Santé Publique à l'Université Clermont-Auvergne - Compétences : santé environnementale, épidémiologie, évaluation quantitative des risques sanitaires.

Mme Camille SAVARY – Pharmacien toxicologue, Maître de conférence à l'Université d'Angers - Compétences : toxicologie (toxicologie cellulaire et moléculaire, hépatotoxicité, toxicité des nanoparticules), pesticides et métabolites de pesticide.

RAPPORTEURS

Mme Aurore COLLIN – Pharmacien toxicologue, Maître de conférence à l'Université Clermont-Auvergne - Compétences : toxicologie (hépatotoxicité, neurotoxicité, génotoxicité), évaluation quantitative des risques sanitaires, valeurs toxicologiques de référence.

M. Jean-Ulrich MULLOT – Pharmacien en chef, Service de santé des armées, Ministère de la Défense - Compétences : toxicologie générale, réglementation EDCH et produits phytosanitaires, évaluation européenne des produits phytosanitaires et de leurs métabolites.

Mme Camille SAVARY – Pharmacien toxicologue, Maître de conférence à l'Université d'Angers - Compétences : toxicologie (toxicologie cellulaire et moléculaire, hépatotoxicité, toxicité des nanoparticules), pesticides et métabolites de pesticide.

COMITÉ D'EXPERTS SPÉCIALISÉ

Les travaux, objets du présent rapport ont été suivis et adoptés par le CES suivant :

- CES « Eaux »

Président

M. Gilles BORNERT – Chef de service – Groupe vétérinaire des armées de Rennes – Microbiologie, réglementation, situations dégradées, water defense.

Vice-présidents

M. Jean-François HUMBERT – Directeur de recherche / Docteur habilité à diriger des recherches – UMR BIOENCO, Institut de recherche pour l'agriculture, l'alimentation et l'environnement (INRAE), Paris – Microbiologie de l'eau dont cyanobactéries, écologie microbienne.

Mme Anne TOGOLA – Chef de projet de recherche – Bureau de recherche géologiques et minières (BRGM) – Micropolluants organiques, chimie analytique, eaux souterraines.

Membres

M. Jean BARON – Responsable de département / Ingénieur de recherche – Eau de Paris – Matériaux au contact de l'eau, produits et procédés de traitement de l'eau (filiales de traitement), corrosion.

M. Jean-Luc BOUDENNE – Professeur – Université Aix-Marseille – Laboratoire Chimie de l'environnement – Métrologie des eaux, chimie et qualité des eaux.

M. Nicolas CIMETIERE – Maître de conférences – École nationale supérieure de chimie de Rennes (ENSCR) – Analyse et traitement des eaux (EDCH, micropolluants organiques).

M. Bruno COULOMB – Maître de conférences – Université Aix-Marseille – Laboratoire Chimie de l'environnement – Contaminants chimiques, méthodes d'analyse, devenir des contaminants.

M. Christophe DAGOT – Professeur / Directeur de département – Université de Limoges – UMR Inserm 1092, RESINFIT – Antibiorésistance (intégrons, génie des procédés), qualité des effluents (antibiotiques et bactéries résistantes).

Mme Sabine DENOZ – Expert process et qualité de l'eau – La société wallonne des eaux – Produits et procédés de traitement de l'eau (EDCH), plans de gestion de la sécurité sanitaire des eaux (PGSSE), expertise technique.

Mme Isabelle DUBLINEAU – Chargée d'évaluation de la maîtrise des risques radiologiques et nucléaires / Docteur habilité à diriger des recherches – Institut de radioprotection et de sûreté nucléaire (IRSN) – Toxicologie, radioéléments.

M. Frédéric FEDER – Directeur de l'unité « Recyclage et risque » – Centre de coopération internationale en recherche agronomique pour le développement (CIRAD) – Géochimie, transfert des contaminants eau/sol/plante, évaluation des risques environnementaux, analyses des eaux, sols et végétaux, reuse, REUT.

M. Matthieu FOURNIER – Maître de conférences, habilitation à diriger des recherches (HDR) en Géosciences – Université Rouen Normandie – Hydrogéologie, hydrologie, EDCH, transfert et devenir des micro-organismes dans l'environnement, modélisation, risques sanitaires.

M. Stéphane GARNAUD-CORBEL – Chargé de mission recherche « Eau, biodiversité et aménagement urbain » – Office français de la biodiversité (OFB) – Assainissement, gestion intégrée des eaux pluviales, traitement des boues, utilisation d'eaux non conventionnelles.

Mme Nathalie GARREC – Ingénieur recherche expertise – Centre scientifique et technique du bâtiment (CSTB) – Microbiologie de l'eau, pathogènes opportunistes, efficacité des biocides.

M. Johnny GASPERI – Chercheur – Université Gustave Eiffel – Micropolluants organiques, eaux urbaines, eaux de surface, traitements des eaux usées.

M. Julio GONÇALVÈS – Professeur – Centre européen de recherche et d'enseignement en géosciences de l'environnement (CEREGE), Aix en Provence – Hydrogéologie, ressources en eaux, transfert de contaminants dans les nappes, modélisation, recharge.

M. Jean-Louis GONZALEZ – Chercheur habilité à diriger des recherches – Institut français de recherche pour l'exploitation de la mer (IFREMER) – Milieu marin, contaminants chimiques, spéciation, modélisation, échantillonnages passifs.

M. Olivier HORNER – Directeur de la Formation – École nationale supérieure de chimie de Paris (ENSCP), Chimie ParisTech – Chimie de l'eau, traitement des eaux.

M. Michel JOYEUX – Retraité, Docteur en Médecine, Docteur en Sciences – Médecine, toxicologie, évaluation quantitative du risque sanitaire, méthodes d'analyse des dangers, chimie de l'eau, produits et procédés de traitement des EDCH, santé environnement.

M. Jérôme LABANOWSKI – Chargé de recherche CNRS – Université de Poitiers - UMR CNRS 7285 IC2MP – École Nationale Supérieure d'Ingénieurs de Poitiers – Qualité des effluents, biofilm en rivière, sédiments, devenir des contaminants effluents-rivière.

Mme Sophie LARDY-FONTAN – Directrice du laboratoire d'hydrologie de Nancy – Métrologie, chimie analytique, micropolluants, ultratrace, assurance qualité/contrôle qualité (QA/QC).

Mme Françoise LUCAS – Enseignant-chercheur – Université Paris-Est Créteil – Virologie, écologie microbienne, indicateurs de contamination fécale, bactériophages, mycobactéries, virus entériques, eaux usées et pluviales.

M. Christophe MECHOUK – Chef de division « Études et construction » – Service de l'eau de la ville de Lausanne – Ingénierie de l'eau (eau potable, eaux usées, eau de process, piscine), traitement de l'eau (procédés), physico-chimie et microbiologie de l'eau, micropolluants.

M. Laurent MOULIN – Responsable du département recherche et développement – Eau de Paris – Microbiologie, virologie, traitements de désinfection, amibes.

M. Damien MOULY – Epidémiologiste, responsable d'unité, en charge de surveillance des épidémies d'origine hydrique – Santé Publique France – Risques infectieux, risques chimiques, PGSSE, épidémiologie, évaluation des risques sanitaires, surveillance, alerte.

Mme Fabienne PETIT – Enseignant chercheur / Professeur – Université de Rouen / UMR CNRS M2C – Écologie microbienne.

Mme Catherine QUIBLIER – Professeur Université Paris Diderot, HDR – Museum National d'Histoire Naturelle – Écologie et toxicité des cyanobactéries planctoniques et benthiques, surveillance.

Mme Pauline ROUSSEAU-GUEUTIN – Enseignante chercheuse en hydrogéologie – École des hautes études en santé publique (EHESP) – Hydrogéologie, hydrologie, transferts des contaminants, périmètres de protection de captage, PGSSE.

Mme Marie-Pierre SAUVANT-ROCHAT – Professeur – Université Clermont-Auvergne / Faculté de Pharmacie, Clermont-Ferrand – Santé publique et environnement, épidémiologie, évaluation de risques sanitaires.

Mme Michèle TREMBLAY – Docteur en médecine spécialiste en santé communautaire / Médecin conseil en santé au travail et en maladies infectieuses – retraitée – Santé travail, microbiologie de l'eau.

PARTICIPATION ANSES

Coordination scientifique

Mme Esther CHABOT – Direction d'évaluation des risques, unité d'évaluation des risques liés à l'eau – Anses

Contribution scientifique

Mme Adeline CAVELIER – Direction d'évaluation des produits réglementés – Anses

Mme Farida OUADI – Direction d'évaluation des produits réglementés – Anses

Secrétariat administratif

Mme Françoise LOURENCO – Anses