

Le directeur général

Maisons-Alfort, le 30 septembre 2022

AVIS¹ de l'Agence nationale de sécurité sanitaire de l'alimentation, de l'environnement et du travail

**relatif au réexamen du classement de la pertinence pour le métabolite ESA
(CGA 354743) du S-métolachlore 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 le 24 novembre 2021 par la Direction générale de la santé (DGS) pour réexaminer le classement de la pertinence pour le métabolite ESA (CGA 354743) du S-métolachlore dans les eaux destinées à la consommation humaine (EDCH).

1. CONTEXTE ET OBJET DE LA SAISINE

Les directives 98/83/CE² et 2020/2184³ fixent des limites de qualité (LQ) dans les EDCH pour les pesticides et leurs métabolites pertinents (0,1 µg.L⁻¹ par substance individuelle et 0,5 µg.L⁻¹ pour la somme des pesticides et métabolites pertinents)⁴, sans définir les critères ou les modalités d'évaluation de la pertinence. Ainsi, afin notamment de répondre aux enjeux de gestion locale lorsque des métabolites de pesticides sont présents à des concentrations

¹ Annule et remplace l'avis du 27 juillet 2022. Les corrections effectuées sont décrites en Annexe 3.

² Directive 98/83/CE du 3 Novembre 1998 relative à la qualité des eaux destinées à la consommation humaine.

³ Directive (UE) 2020/2184 du Parlement européen et du Conseil du 16 décembre 2020 relative à la qualité des eaux destinées à la consommation humaine.

⁴ À l'exception de l'aldrine, dieldrine, heptachlore et heptachlore époxyde pour lesquels la valeur est de 0,03 µg.L⁻¹.

supérieures aux LQ réglementaires dans les EDCH, la DGS a saisi l'Agence pour définir et établir des critères d'évaluation de la pertinence des métabolites de pesticides dans les EDCH (saisine n° 2015-SA-0252). Ces travaux ont fait l'objet d'un avis en date du 30 janvier 2019 (Anses, 2019).

Dans le cadre de l'avis précité, le métabolite ESA (CGA 354743) du S-métolachlore a fait l'objet d'une première évaluation de sa pertinence. Ce métabolite a été classé comme « pertinent pour les EDCH » considérant, d'une part l'insuffisance de données relatives à son activité « pesticide », d'autre part le manque de robustesse de certaines données ne permettant pas de conclure sur son potentiel génotoxique.

Cette expertise avait été menée alors que la procédure européenne de réévaluation de la substance active (SA) mère, le S-métolachlore, était lancée. Cette dernière est toujours en cours.

En 2020, des données complémentaires, portant notamment sur l'activité « pesticide » et le potentiel génotoxique du métabolite, ont été transmises par la société Syngenta⁵ à la demande de l'agence européenne de sécurité des aliments (« European food safety authority » ou Efsa) dans le cadre de cette procédure européenne. La DGS a alors saisi l'Anses pour réévaluer la pertinence du métolachlore ESA (CGA 354743). L'Anses a conclu dans l'avis du 14 janvier 2021 (Anses, 2021) à l'absence d'activité « pesticide » du métabolite. Il a toutefois été classé « pertinent pour les EDCH » considérant des résultats équivoques d'essais relatifs à son potentiel génotoxique, des manquements soulevés lors de l'examen des études disponibles ne permettant toujours pas de conclure fermement à ce sujet.

Fin 2021, deux nouvelles études de génotoxicité ont été transmises par le notifiant à l'Anses, afin d'apporter des éléments complémentaires sur le potentiel génotoxique du métabolite. Considérant ces nouvelles données, la DGS a saisi l'Anses pour réévaluer la pertinence du métabolite ESA (CGA 354743) du S-métolachlore.

En mars 2022, après examen des données de génotoxicité complémentaires, l'Anses a adressé au pétitionnaire des demandes de précision concernant la méthodologie et l'analyse des résultats qui lui ont été soumises. Le déclarant a apporté des réponses début avril 2022 ; ces dernières ont été prises en compte dans la présente expertise.

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 des rapporteurs externes pour le réexamen du caractère « pertinent pour les EDCH » du métabolite ESA du S-métolachlore.

Le projet d'avis a été présenté et validé par le groupe de travail « Évaluation des risques sanitaires associés aux paramètres chimiques des eaux destinées à la consommation humaine » (GT ERS EDCH III). Les travaux ont été présentés au GT lors des réunions des 11 mars et 5 mai 2022 et validés lors de la réunion du 14 juin 2022. Les travaux ont été présentés au CES « Eaux » les 5 avril et 10 mai 2022 et adoptés le 5 juillet 2022.

⁵ Société détentrice de l'autorisation de mise sur le marché du S-métolachlore.

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 du ministère en charge des solidarités et de la santé (<https://dpi.sante.gouv.fr>).

3. ANALYSE ET CONCLUSIONS DU GT « ERS EDCH III » ET 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 au métabolite ESA du S-métolachlore.

Les données considérées pour évaluer sa pertinence pour les EDCH sont issues de la documentation disponible dans le cadre de la demande de réapprobation du S-métolachlore (rapports d'évaluation du S-métolachlore rédigés par l'État membre rapporteur du dossier de réévaluation, soit le « Rapporteur Member State » ou RMS) (Efsa, 2020a, 2020b, 2020c), de nouvelles études de génotoxicité transmises à l'Agence par le déclarant et de la littérature scientifique. Le CES note, qu'au moment de la rédaction de cet avis, la procédure européenne de réévaluation de la substance active S-métolachlore est toujours en cours.

3.1. Identification

Le métabolite métolachlore ESA (pour « Ethane Sulfonic Acid », appelé CGA 354743, portant le numéro CAS 171118-09-5) correspond à l'acide 2-[(2-éthyl-6-méthylphényl)(1-méthoxy-2-propyl)amino]-2-oxoéthanesulfonique (voir figure ci-dessous) :

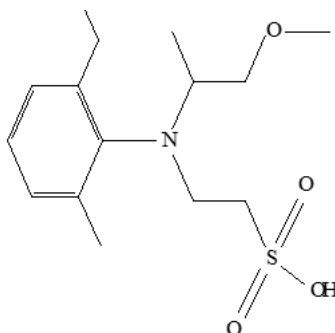


Figure : Structure chimique du métabolite métolachlore ESA (CGA 354743) (Efsa, 2020b).

3.2. Évaluation de la pertinence

Comme indiqué dans le chapitre 1 du présent avis, la pertinence du métolachlore ESA (CGA 354743) dans les EDCH a déjà été évaluée en 2018 et en 2020. Les conclusions des avis en date du 30 janvier 2019 (saisine n° 2015-SA-0252) et du 14 janvier 2021 (saisine n° 2019-SA-0129) précités sont donc reprises pour chaque critère de l'arbre décisionnel et amendées par les conclusions sur les nouvelles données.

Une recherche bibliographique concernant les effets mutagènes, génotoxiques, cancérigènes, la toxicité pour la reproduction et le potentiel de transformation dans les filières

de traitement d'EDCH a été réalisée en 2018, puis réactualisée en 2020. Elle a été à nouveau mise à jour en avril 2022.

Par ailleurs, à ce jour, la SA parente du métabolite, le S-métolachlore, n'est pas classée au titre du règlement CLP (CE) n°1272/2008⁶ pour des propriétés cancérigènes, mutagènes ou reprotoxiques (CMR). Elle fait cependant l'objet d'une proposition de classement en catégorie C2 et R2 par le RMS. Depuis le mois de novembre 2020, les experts notent également un arrêt d'horloge (d'une durée maximale de 30 mois) dans le processus européen de réévaluation de la SA, en raison d'une demande par l'Efsa de données complémentaires afin d'évaluer son potentiel de perturbation endocrinienne (PE).

➤ *Examen de l'activité « pesticide »*

✓ Rappel des conclusions de l'avis du 30 janvier 2019 (saisine n° 2015-SA-0252)

Il a été acté que la plupart des études concernant l'activité herbicide étaient insuffisantes pour conclure quant à l'absence d'activité « pesticide » du métolachlore ESA (CGA 354743). En particulier, la SA S-métolachlore n'avait pas été testée en parallèle de ces essais et, par conséquent, aucune comparaison des activités herbicides n'a pu être faite.

✓ Données complémentaires (2020)

Deux nouvelles études étaient disponibles dans le DRAR (« Draft Renewal Assessment Report ») (Efsa, 2020c).

D'après le RMS, ces deux études complémentaires ont montré que le métolachlore ESA (CGA 354743) ne présente pas d'activité « pesticide » à des concentrations où le S-métolachlore présente une activité herbicide. Ces études ont été considérées suffisantes pour conclure quant à l'absence d'activité « pesticide » du métolachlore ESA (CGA 354743).

✓ Rappel des conclusions de l'avis du 14 janvier 2021 (saisine n° 2019-SA-0129)

Le CES « Eaux » a considéré que le métolachlore ESA (CGA 354743) n'était pas classé comme un métabolite pertinent au titre de cette étape.

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

➤ *Examen du potentiel génotoxique*

Le rapport d'évaluation européen actuel⁷ présente des résumés des résultats d'un test d'Ames, un test de mutation génique *in vitro* au locus HPRT sur cellules de mammifères (hamster chinois), ainsi qu'un test du micronoyau *in vivo* réalisé sur érythrocytes de mammifères (souris).

Deux nouvelles études ont été transmises à l'Anses par le déclarant en novembre 2021 : un test de mutation génique *in vitro* au locus HPRT sur cellules de mammifères (hamster chinois) et un test du micronoyau *in vivo* réalisé sur érythrocytes de mammifères (souris).

L'ensemble des résultats est présenté dans le tableau 1 ci-dessous (les deux nouvelles études apparaissent en gras).

⁶ 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.

⁷ Dans la version 2018 de ce chapitre du rapport d'évaluation européen (*Draft Renewal Assessment Report. S-Metolachlor. Volume 3 – B.6 Toxicology and metabolism data*), figurait un essai de synthèse non programmée de l'ADN (UDS) sur des hépatocytes de mammifères *in vitro* dont le résultat était négatif, ce dernier ne figure plus dans la version 2020 du DRAR.

Tableau 1 : Résumé des études de génotoxicité du métabolite ESA du S-métolachlore

Type d'essai	Système cellulaire	Doses et concentrations testées	Conclusions de l'expertise	Ligne directrice (LD)
Test d'Ames (test bactérien de mutation génique <i>in vitro</i>)	<i>Salmonella</i> Typhimurium (TA98, TA100, TA102, TA1535, TA1537) <i>Escherichia coli</i> (WP2 uvrA)	0 ; 312,5 ; 625 ; 1 250 ; 2 500 ; 5 000 µg.puits ⁻¹	Négatif	OCDE* 471 (1983)
Test de mutation génique <i>in vitro</i> au locus HPRT sur cellules de mammifères	Cellules d'hamster chinois (V79)	0 ; 185,2 ; 555,6 ; 1 666,7 ; 5 000 µg.mL ⁻¹ (originales et confirmatoires)	Équivoque	OCDE 476 (1997)
Test de mutation génique <i>in vitro</i> au locus HPRT sur cellules de mammifères	Cellules d'hamster chinois (V79)	0 ; 64,4 ; 128,9 ; 257,8 ; 515,5 ; 1 031 ; 2 062 µg.mL⁻¹	Négatif	OCDE 476 (2016)
Test du micronoyau <i>in vivo</i> sur érythrocytes de mammifères	Érythrocytes de souris	0 ; 1 250 ; 2 500 ; 5 000 mg.kg p.c. ⁻¹	Équivoque	OCDE 474 (1997)
Test du micronoyau <i>in vivo</i> sur érythrocytes de mammifères	Érythrocytes de souris	500 ; 1 000 ; 2 000 mg.kg p.c.⁻¹	Négatif	OCDE 474 (2016)

* Organisation de coopération et de développement économiques.

❖ Test d'Ames

Le test d'Ames a été effectué sous bonnes pratiques de laboratoire (BPL) en utilisant différentes souches de *Salmonella* Typhimurium (TA98, TA100, TA102, TA1535, TA1537) ou *Escherichia coli* (WP2 uvrA) conformément aux LD OCDE 471. Le métabolite ESA (CGA 354743) (pureté 95 %, numéro de lot RV2816 / 1) dissous dans du diméthylsulfoxyde (DMSO) a été testé en triplicat à des concentrations finales de 0, 312,5, 625, 1 250, 2 500 et 5 000 µg.boîte⁻¹, en l'absence et en présence d'activation métabolique (S9 de foie de rat induit par de l'Aroclor 1254), pendant 48 heures.

✓ Rappel des conclusions de l'avis du 30 janvier 2019 (saisine n° 2015-SA-0252)

Dans son avis 2015-SA-0252, l'Anses a estimé que le test d'Ames ainsi réalisé permettait de conclure que le métolachlore ESA (CGA 354743) n'induisait pas de mutation génique sur le système étudié au regard des données expérimentales disponibles.

❖ Test de mutation génique *in vitro* au locus HPRT sur cellules de mammifères

L'induction de mutation au locus HPRT a également été étudiée sur des cellules d'hamster chinois V79, sous BPL, selon la LD OCDE 476 (1997). Les cellules V79 ont été exposées

pendant 21 heures en l'absence d'activation métabolique ou pendant 5 heures en présence d'activation métabolique (S9 de foie de rat induit par de l'Aroclor 1254) aux concentrations de 0, 185,2, 555,6, 1 666,7 et 5 000 $\mu\text{g.mL}^{-1}$ de métolachlore ESA (CGA 354743) (98 % de pureté).

✓ Rappel des conclusions de l'avis du 30 janvier 2019 (saisine n° 2015-SA-0252)

Les résultats de l'essai ont été considérés comme équivoques à faiblement positifs sans activation métabolique aux concentrations de 555,6 et 5 000 $\mu\text{g.mL}^{-1}$.

✓ Données complémentaires (2020) et rappel des conclusions de l'avis du 14 janvier 2021 (saisine n° 2019-SA-0129)

Devant ces résultats équivoques, l'Efsa a demandé au notifiant de fournir une nouvelle évaluation du test HPRT *in vitro* avec le métolachlore ESA (CGA 354743), incluant une lecture croisée (« read-across »).

Le RMS a considéré que, selon la LD (OCDE 476, 2016) concernant les essais *in vitro* de mutation génétique sur les cellules de mammifères, les résultats de ce test HPRT ne pouvaient être considérés comme clairement négatifs et demeuraient équivoques.

Le RMS et le CES « Eaux » ont estimé que les éléments complémentaires soumis par le notifiant n'étaient pas suffisants. En particulier, une évaluation des relations structure-activité (« Quantitative structure-activity relationship » ou QSAR) avait été réalisée *a posteriori* en utilisant un seul système expert. Celle-ci n'apportait aucun élément de nature à remettre en question les conclusions actuelles concernant l'activité mutagène du métolachlore ESA (CGA 354743) observée dans les cellules de mammifères.

Le CES « Eaux » a conclu que les nouvelles données ne permettaient pas de lever le doute quant au potentiel mutagène du métolachlore ESA (CGA 354743) selon le test HPRT.

❖ **Test de mutation génique *in vitro* au locus HPRT sur cellules de mammifères (nouvelle étude transmise en novembre 2021)**

L'induction de mutation au locus HPRT a été étudiée sur des cellules d'hamster chinois V79, sous BPL, selon la LD OCDE 476 (2016). Les cellules V79 ont été exposées pendant 4 heures en l'absence d'activation métabolique ou en présence d'activation métabolique (S9 de foie de rat induit par un mélange de phénobarbital et de β -naphthoflavone) aux concentrations de 0, 64,4, 128,9, 257,8, 515,5, 1 031,0 et 2 062,0 $\mu\text{g.mL}^{-1}$ de métolachlore ESA (CGA 354743) (97 % de pureté). L'expérience a été répliquée sur deux cultures. Les analyses aux deux concentrations les plus faibles n'ont pas été poursuivies jusqu'à l'étape de détermination des fréquences de mutation, selon le déclarant en raison d'une absence de cytotoxicité marquée jusqu'à la plus forte concentration et pour limiter le nombre de concentrations testées à quatre (minimum exigé dans la LD (OCDE 476, 2016)).

L'analyse des résultats réalisée sur la moyenne des deux cultures a montré qu'aucune concentration d'essai ne présentait une augmentation significative par rapport au témoin négatif contemporain. Tous les résultats se situaient en deçà de la limite supérieure de l'intervalle de confiance à 95 % des données historiques des contrôles négatifs. De plus, le CES « Eaux » note l'absence de relation dose-effet.

Une analyse statistique individuelle a montré, pour une des deux cultures, une légère augmentation significative à la dose maximale en présence d'activation métabolique, avec un résultat en dehors de la plage des données historiques des contrôles négatifs. Cette anomalie statistique n'est toutefois pas retrouvée après analyse sur la moyenne des deux cultures.

Les experts notent un chevauchement des intervalles de confiance des témoins historiques positifs et négatifs, en lien avec une hypothèse de distribution normale des données de contrôles historiques utilisées par le déclarant. Pour les besoins de l'expertise, la distribution des données de contrôles historiques a été étudiée à partir de l'extraction des données présentées dans les cartes de contrôles. Les résultats de l'étude complémentaire ont montré une absence de recouvrement des données des témoins historiques positifs et négatifs par méthode de bootstrap ainsi que par application d'une loi de distribution plus adaptée aux données.

D'après les résultats de l'étude, le métolachlore ESA (CGA 354743) n'a pas induit de mutations géniques *in vitro* vis-à-vis du locus HPRT dans les cellules V79 dans les conditions de l'essai.

- ✓ Mise en parallèle des résultats avec le précédent test de mutation génique *in vitro* au locus HPRT sur cellules de mammifères

La concentration maximale (5 000 µg.mL⁻¹) pour laquelle des résultats équivoques à faiblement positifs avaient été observés en l'absence d'activation métabolique n'a pas été reprise dans le nouveau test, conformément aux recommandations de la LD en vigueur (OCDE 476, 2016). Lors de la révision de la LD OCDE 476 en 2015, la concentration d'essai maximale recommandée a été abaissée à 2 000 µg.mL⁻¹ en cas d'absence de précipité ou de cytotoxicité limitante.

Il est également noté une réduction de la durée d'exposition en l'absence d'activation métabolique à 4 heures (elle était de 21 heures dans le test précédent). Ce point ne constitue pas une déviation, puisque conforme aux préconisations de la LD en vigueur.

Le CES « Eaux » regrette que le déclarant n'ait pas interprété les résultats de la nouvelle étude au regard des résultats équivoques du test précédent, en discutant notamment les modifications de conditions expérimentales.

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

Le potentiel d'induction d'aberrations chromosomiques *in vivo* a été investigué chez des souris mâles et femelles. L'étude a été réalisée sous BPL en 1998, et le protocole était partiellement conforme à la LD 474 alors en vigueur. Le métolachlore ESA (CGA 354743) (98 % de pureté) dilué dans de l'eau distillée a été administré aux doses de 0, 1 250, 2 500 et 5 000 mg.kg p.c.⁻¹ par gavage dans un volume de 10 mL.kg p.c.⁻¹ (5 souris/sexe/dose). Les animaux ont été sacrifiés à 16, 24 et 48 heures. Un contrôle analytique révélait une correspondance satisfaisante avec les concentrations administrées. Un total de 1 000 érythrocytes polychromatiques (PCE) a été analysé par lame pour la présence de micronoyaux ainsi que le ratio des PCE aux érythrocytes normochromatiques (NCE).

Une légère augmentation (non significative) du nombre de micronoyaux a été observée à la dose maximale chez les deux sexes à 24 heures. L'incidence se situait dans l'intervalle des données historiques des contrôles négatifs. De plus, il a été noté l'absence de relation dose-effet chez les femelles avec des valeurs à la dose faible et à la dose forte quasi identiques. Cependant, la réévaluation mentionnait que les données historiques des témoins négatifs et positifs pour les souris utilisées se composaient de seulement sept expériences, qui avaient toutes été effectuées en 1998. Or, selon la LD OCDE 474 (2016), un minimum de dix expériences est nécessaire pour une base de données de contrôles historiques afin d'atteindre une robustesse statistique, et le décompte de cellules supplémentaires est suggéré si la fréquence moyenne des érythrocytes immatures micronucléés de la base de données historiques des contrôles négatifs est inférieur à 0,1 %.

✓ Rappel des conclusions de l'avis du 30 janvier 2019 (saisine n° 2015-SA-0252)

L'étude a été uniquement considérée comme informative par le CES « Eaux » car un nombre limité de cellules avait été évalué pour une éventuelle induction de micronoyaux (2 000 cellules ont été analysées dans cette étude alors qu'une analyse de 4 000 cellules est recommandée par la LD OCDE 474 (2016)).

Dans les conditions de l'étude, les résultats n'ont donc pas été considérés comme suffisamment robustes pour conclure sur le potentiel génotoxique du métolachlore ESA (CGA 354743). Le notifiant a été invité par l'Efsa à fournir des considérations supplémentaires sur l'acceptabilité de l'étude (nombre de PCE comptabilisés et témoin historique) et des preuves supplémentaires de l'exposition de la moelle osseuse (MO).

✓ Données complémentaires (2020) et rappel des conclusions de l'avis du 14 janvier 2021 (saisine n° 2019-SA-0129)

Concernant la preuve de l'exposition de la MO :

La preuve de l'exposition de la MO au métolachlore ESA (CGA 354743) dans la principale étude de micronoyaux *in vivo* a été recherchée. Le métolachlore ESA (CGA 354743) a été détecté dans le plasma de souris, 1 heure, 4 heures et 24 heures après une administration orale unique à 2 000 mg.kg p.c.⁻¹, en utilisant une méthode analytique validée. Sur la base des résultats de ces études, il a été conclu qu'une exposition suffisante de la MO était obtenue dans l'étude principale de micronoyaux *in vivo*. D'après le RMS, l'étude était acceptable. Selon l'avis scientifique de l'Efsa (2017), cela suffit à confirmer que la MO avait été exposée au métolachlore ESA (CGA 354743).

Concernant le nombre de cellules évaluées et la fiabilité des témoins historiques :

Malgré une justification du notifiant sur le nombre total de PCE mesuré (2 000 chez dix animaux au lieu de 4 000 sur cinq animaux) et l'utilisation d'une dose supérieure aux exigences actuelles (5 000 mg.kg p.c.⁻¹ au lieu de 2 000 mg.kg p.c.⁻¹), l'étude était toujours considérée comme équivoque par le RMS et le CES « Eaux ». Ces derniers soulignaient l'existence d'une tendance statistiquement significative du nombre de micronoyaux observés chez les animaux mâles et femelles. En outre, même si l'évaluation de l'étude a été effectuée en utilisant la LD 474 en vigueur au moment de la réalisation de l'essai (avec notamment moins de cellules analysées), celle-ci manquait de puissance statistique alors même qu'une tendance était observée. La fiabilité des données de contrôles historiques restait également limitée.

❖ Test du micronoyau *in vivo* sur érythrocytes de mammifères (nouvelle étude transmise en novembre 2021)

Le potentiel d'induction d'aberrations chromosomiques *in vivo* a été investigué chez des souris mâles. L'étude a été réalisée sous BPL, selon la LD OCDE 474 (2016). Le métolachlore ESA (CGA 354743) (97 % de pureté) dilué dans de l'eau purifiée a été administré en traitement unique aux doses de 500, 1 000 et 2 000 mg.kg p.c.⁻¹ par gavage dans un volume de 10 mL/kg p.c.⁻¹ (six souris par dose et cinq pour les contrôles positifs et négatifs). Les animaux ont été sacrifiés à 24 et 48 heures. Un total de 4 000 PCE a été analysé par lame pour la présence de micronoyaux. Le rapport des PCE/NCE a été déterminé à partir d'un comptage de 500 PCE. Pour tous les groupes de traitement, les valeurs moyennes des micronoyaux observées après traitement se situaient dans la plage des données historiques des contrôles négatifs. L'administration du métolachlore ESA (CGA 354743) n'a entraîné aucune augmentation du nombre de PCE micronucléés dans aucun des groupes traités, aussi bien 24 heures que 48 heures après un traitement unique.

D'après les résultats de l'étude, le métolachlore ESA (CGA 354743) n'a pas induit de micronoyaux *in vivo* dans les érythrocytes de souris dans les conditions de l'essai.

- ✓ Mise en parallèle des résultats avec le précédent test de micronoyaux *in vivo* sur érythrocytes de mammifères

La dose maximale (5 000 mg.kg p.c.⁻¹) à laquelle un effet avait été observé n'a pas été reprise dans le nouveau test. La LD OCDE 474 (2016) est toutefois respectée puisqu'elle stipule que si le produit chimique d'essai ne provoque aucune toxicité, la dose la plus élevée pour des périodes d'administration de moins de 14 jours doit être de 2 000 mg.kg p.c.⁻¹ par jour.

Le CES « Eaux » regrette que le déclarant n'ait pas interprété les résultats de la nouvelle étude au regard des résultats équivoques du test précédent. Cependant, les éléments complémentaires ont permis de répondre à la préoccupation principale de la précédente étude concernant la puissance statistique et ainsi de lever les doutes sur les résultats équivoques observés.

❖ Conclusion sur le potentiel génotoxique du métolachlore ESA (CGA 354743)

Le CES « Eaux » regrette l'absence d'interprétation globale des résultats des différents tests par le déclarant. Ces points n'empêchent cependant pas la levée du doute sur le potentiel génotoxique.

Ainsi, considérant que :

- pour le test de mutation génique *in vitro* au locus HPRT :
 - les résultats de la nouvelle étude sont négatifs ;
- pour le test du micronoyau *in vivo* réalisé sur cellules de MO de souris :
 - les résultats de la nouvelle étude sont négatifs ;
 - la préoccupation principale de l'étude précédente concernant la puissance statistique a été levée ;

le CES « Eaux » conclut à une absence d'effet génotoxique du métolachlore ESA (CGA 354743).

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

➤ Examen de la toxicité sur la reproduction

Aucune donnée de toxicité pour la reproduction spécifique au métolachlore ESA (CGA 354743) n'est disponible dans le dossier d'approbation de la substance parente ni dans la littérature scientifique.

Comme précisé en partie 3.2, la SA parente, le S-métolachlore, n'est pas classée pour la reprotoxicité au titre du règlement (CE) n°1272/2008. Elle fait cependant l'objet d'une proposition de classement en catégorie R2 par le RMS. L'adoption de cette conclusion à l'issue de la procédure de réévaluation de la SA ne justifierait pas que le métabolite soit classé pertinent.

En conclusion, selon la méthodologie exposée dans l'avis du 30 janvier 2019 (saisine n°2015-SA-0252), considérant l'absence à ce jour de donnée relative aux effets du métabolite sur la reproduction et l'absence de classement harmonisé de la SA, le CES

« Eaux » considère que le métolachlore ESA (CGA 354743) n'est pas classé comme un métabolite pertinent au titre de cette étape.

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

➤ *Examen de la cancérogénicité*

Aucune donnée de cancérogénicité spécifique du métolachlore ESA (CGA 354743) n'est disponible tant dans le rapport d'évaluation européen de la SA que dans la littérature scientifique.

Comme précisé au paragraphe 3.2, la SA parente (S-métolachlore) n'est pas classée pour la cancérogénicité au titre du règlement (CE) n°1272/2008. Elle fait cependant l'objet d'une proposition de classement en catégorie C2 par le RMS. L'adoption de cette conclusion à l'issue de la procédure de réévaluation de la SA ne justifierait pas que le métabolite soit classé pertinent.

En conclusion, selon la méthodologie exposée dans l'avis du 30 janvier 2019 (saisine n°2015-SA-0252), considérant l'absence à ce jour de donnée relative à la cancérogénicité du métabolite et l'absence de classement harmonisé de la SA, le CES « Eaux » considère que le métolachlore ESA (CGA 354743) n'est pas classé comme un métabolite pertinent au titre de cette étape.

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

➤ *Évaluation du potentiel de perturbation endocrinienne*

Aucune étude dédiée à la recherche d'un potentiel de perturbation endocrinienne (PE) du métolachlore ESA (CGA 354743) n'a été identifiée tant dans la bibliographie que dans les rapports d'évaluation européens.

Concernant la SA S-métolachlore, une évaluation réglementaire selon le document d'orientation Efsa/ECHA (*European chemical agency* ou agence européenne des produits chimiques) (2017) est en cours, avec un arrêt d'horloge en raison d'une demande par l'Efsa de données complémentaires afin d'évaluer son potentiel PE.

En conclusion, selon la méthodologie exposée dans l'avis du 30 janvier 2019 (saisine n°2015-SA-0252), le CES « Eaux » considère que le métolachlore ESA (CGA 354743) n'est pas classé comme un métabolite pertinent au titre de cette étape.

Cependant, si la SA était classée PE à l'issue de l'examen de sa demande de réapprobation au niveau européen, il sera nécessaire de réévaluer le classement de la pertinence pour ce métabolite, conformément au schéma décisionnel de détermination de la pertinence dans les EDCH.

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

➤ *Évaluation de la transformation potentielle dans la filière de traitement EDCH*

Lors des précédentes évaluations, il n'avait pas été mis en évidence de données dans la littérature scientifique concernant la transformation du métolachlore ESA (CGA 354743) dans les filières de traitement, l'identification de sous-produits générés et leur éventuelle toxicité.

En 2022, une nouvelle recherche bibliographique conduit aux mêmes conclusions.

En conséquence, le CES « Eaux » considère que le métolachlore ESA (CGA 354743) n'est pas classé comme un métabolite pertinent au titre de cette étape.

3.3. Conclusion du CES « Eaux » sur la pertinence du métabolite ESA (CGA 354743)

Sur la base des données des rapports d'évaluation européenne, des nouvelles études de génotoxicité transmises par le déclarant et de la recherche bibliographique réalisée en complément, et selon le schéma décisionnel de détermination de la pertinence dans les EDCH, le métolachlore ESA (CGA 354743) 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 réexaminer le caractère « pertinent » ou « non pertinent » du métabolite ESA du S-métolachlore à la lumière de nouvelles données transmises par le déclarant, la société Syngenta. L'Anses a renouvelé l'application de sa méthodologie, élaborée dans le cadre de son avis du 30 janvier 2019, en veillant à prendre en compte les données les plus récentes disponibles.

L'Agence adopte les conclusions du GT « ERS EDCH » et du CES « Eaux ».

L'Anses note que l'application de l'instruction n° DGS/EA4/2020/177 du 18 décembre 2020⁸ à ce métabolite classé « non pertinent pour les eaux destinées à la consommation humaine (EDCH) » conduit à retenir – dans le cadre de la surveillance de la qualité de l'eau, une valeur de vigilance de 0,9 µg.L⁻¹. L'Agence renvoie à son avis de 2019 pour les modalités d'élaboration de cette valeur : elle avait été établie pour viser un niveau de risque acceptable dans le cas d'une exposition longue durée, y compris dans un contexte de données disponibles limitées.

En cas de situation de présence durable d'une concentration supérieure à cette valeur de vigilance, cette même instruction fait appel à une notion de valeur guide. L'Agence rappelle une conclusion de son premier avis (Anses, 2022) relatif à la transposition de la directive (CE) n°2020/2184 qu'elle n'a établi, à ce jour, aucune valeur guide de cette nature, en l'absence de définition précise de la notion et de la méthodologie pour leur élaboration.

Enfin, l'Agence appelle l'attention sur le fait que le règlement (CE) n°1107/2009 modifié⁹ inclut désormais dans le processus d'approbation des substances actives la production de données scientifiques pour caractériser la molécule candidate au regard du danger « perturbateur endocrinien ». Aussi, des données nouvelles par rapport à celles prises en compte pour la présente expertise vont être rendues disponibles au sujet de cette classe de danger. Si la substance active, le S-métolachlore, était classée comme perturbateur endocrinien au vu de

⁸ Instruction n°DGS/EA4/2020/177 du 18 décembre 2020 relative à la gestion des risques sanitaires en cas de présence de pesticides et métabolites de pesticides dans les eaux destinées à la consommation humaine, à l'exclusion des eaux conditionnées.

⁹ Règlement (CE) n°1107/2009 du Parlement européen et du Conseil du 21 octobre 2009 concernant la mise sur le marché des produits phytopharmaceutiques et abrogeant les directives 79/117/CEE et 91/414/CEE du Conseil (version consolidée du 27 mars 2021) <https://eur-lex.europa.eu/legal-content/FR/TXT/PDF/?uri=CELEX:02009R1107-20210327&from=EN>.

ces données, il serait nécessaire de réévaluer le classement de la pertinence pour le métabolite ESA, conformément au schéma décisionnel de détermination de la pertinence des métabolites dans les eaux de boisson.

Dr Roger Genet

MOTS-CLES

Pesticides, métabolite, pertinence, EDCH, eau de boisson, métolachlore ESA (CGA 354743).
Pesticides, metabolite, relevant, drinking-water, ESA metolachlor (CGA 354743).

BIBLIOGRAPHIE

Publications

Anses. (2014). Avis de l'Anses du 2 janvier 2014 relatif à la détermination de valeurs sanitaires (V_{MAX}) pour des acides sulfonique (ESA) et oxanilique (OXA) de l'alachlore et du métolachlore.

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.

Anses. (2021). Avis de l'Anses du 14 janvier 2021 relatif à la détermination de la pertinence pour les eaux destinées à la consommation humaine pour les métabolites de pesticides : métolachlore OXA (CGA 51202), métolachlore ESA (CGA 354743) et métolachlore NOA 413173 (SYN 547627).

Anses. (2022). Avis de l'Anses du 29 mars 2022 relatif à trois projets d'arrêtés et un avis associé transposant les dispositions de la directive (UE) 2020/2184 relative à la qualité des eaux destinées à la consommation humaine (Lot 1).

Efsa. (2017). *Clarification of some aspects related to genotoxicity assessment*. *EFSA Journal* 2017; 15(12):5113.

Efsa. (2020a). *Draft Renewal Assessment Report prepared according to the Commission Regulation (EU) n°1107/2009 – Rapporteur Member State : Germany. S-Métolachlor_RAR_01_Volume_1_2020-08-21 rev1.doc* – Non publié.

Efsa. (2020b). *Draft Renewal Assessment Report prepared according to the Commission Regulation (EU) n°1107/2009 – Rapporteur Member State : Germany. S-Métolachlor_RAR_08_Volume_3CA_B-6_2020-08-21 rev1.doc* – Non publié.

Efsa. (2020c). *Draft Renewal Assessment Report prepared according to the Commission Regulation (EU) n°1107/2009 – Rapporteur Member State : Germany. S-Métolachlor_RAR_12_Volume_3CA_B-9_2020-08-21 rev1.doc* – Non publié.

Efsa/ECHA. (2018). *Guidance for the identification of endocrine disruptors in the context of Regulations (EU) n°528/2012 and (EC) n°1107/2009*.

OCDE 471. (1983 et 1997). Ligne directrice de l'OCDE pour les essais de produits chimiques - Essai de mutation réverse sur des bactéries. : Organisation de Coopération et de Développement Économiques (OCDE).

OCDE 474. (1983, 1997 et 2016) Lignes directrices de l'OCDE pour les essais de produits chimiques – Test du micronoyau sur érythrocytes de mammifères : Organisation de Coopération et de Développement Économiques (OCDE).

OCDE 476. (1997 et 2016) 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).

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 (CE) n°1107/2009 du Parlement européen et du Conseil du 21 octobre 2009 concernant la mise sur le marché des produits phytopharmaceutiques et abrogeant les directives 79/117/CEE et 91/414/CEE du Conseil (version consolidée du 27 mars 2021).

Directive 98/83/CE du Conseil du 3 novembre 1998 relative à la qualité des eaux destinées à la consommation humaine. Journal officiel des Communautés européennes. L330 du 5 décembre 1998, p32-54.

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 relatif aux limites et références de qualité des eaux brutes et des eaux destinées à la consommation humaine mentionnées aux articles R. 1321-2, R. 1321-3, R. 1321-7 et R. 1321-38 du code de la santé publique.

Instruction n°DGS/EA4/2020/177 du 18 décembre 2020 relative à la gestion des risques sanitaires en cas de présence de pesticides et métabolites de pesticides dans les eaux destinées à la consommation humaine, à l'exclusion des eaux conditionnées.

CITATION SUGGÉRÉE

Anses. (2022). Avis relatif au réexamen du classement de la pertinence pour le métabolite ESA (CGA 354743) du S-métolachlore dans les eaux destinées à la consommation humaine. Maisons-Alfort : Anses, 18 p.

ANNEXE 1 – SCHEMA DECISIONNEL DE LA PERTINENCE DES METABOLITES DE PESTICIDES POUR LES EDCH

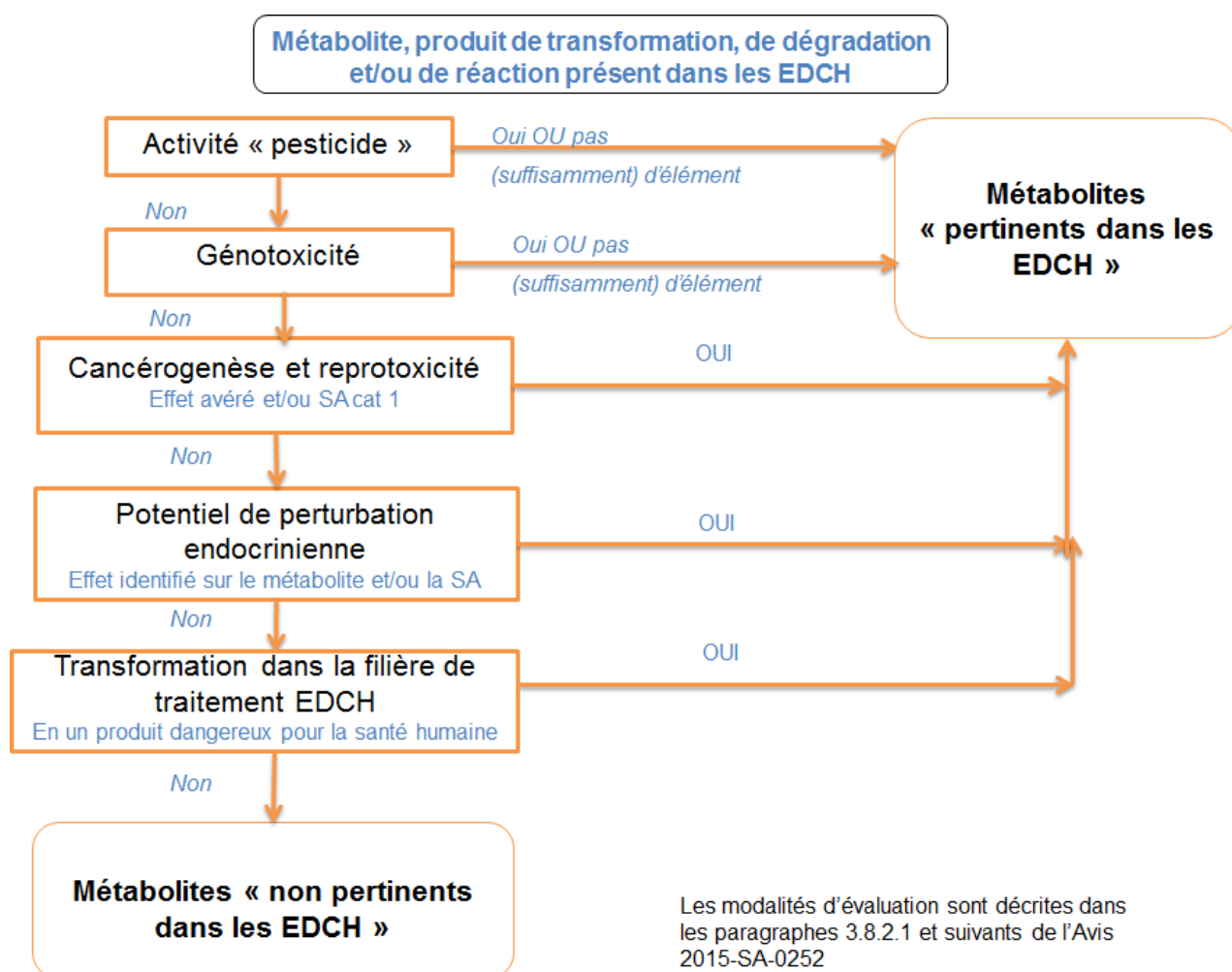


Figure 1 : Schéma décisionnel de la pertinence des métabolites de pesticides pour les EDCH (d'après l'avis de l'Anses 2015-SA-0252 du 30 janvier 2019).

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.

RAPPORTEURS

M. Jean-Ulrich MULLOT – Pharmacien en chef - Service de santé des armées, Ministère de la Défense.

Mme Camille SAVARY – Maître de conférence - Université d'Angers.

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

Président

M. Michel JOYEUX – Retraité, Docteur en Médecine, Docteur en Sciences.

Membres

Mme Aurore COLLIN – Maître de conférence - Université Clermont Auvergne.

M. Fabrice DASSONVILLE – Ingénieur du génie sanitaire, ARS PACA.

M. Joseph DE LAAT – Retraité - Professeur d'université.

Mme Isabelle DUBLINEAU – Chargée d'évaluation de la maîtrise des risques radiologiques et nucléaires - Institut Radioprotection Sûreté Nucléaire (IRSN).

Mme Laetitia KNOCKAERT – Référente pharmacie - Collège des Hautes Études en Médecine.

Mme Barbara LE BOT – Professeur d'université – École des Hautes Etudes en Santé Publique (EHESP).

Mme Marion MORTAMAIS – Chercheur post-doctoral - Institut national de la santé et de la recherche médicale (INSERM).

M. Christophe ROSIN – Unité chimie des eaux - Laboratoire d'Hydrologie de Nancy (LHN), Anses.

Mme Marie-Pierre SAUVANT-ROCHAT – Professeur d'université - Université Clermont Auvergne.

Mme Camille SAVARY – Maître de conférence - Université d'Angers.

PARTICIPATION ANSES

Coordination scientifique

Mme Lauren ARPIN-PONT – Direction d'évaluation des risques, unité d'évaluation des risques liés à l'eau.

Mme Éléonore NEY – Direction d'évaluation des risques, unité d'évaluation des risques liés à l'eau.

Contribution scientifique

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

M. Bertrand DESPREZ – Direction d'évaluation des produits réglementés.

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

Secrétariat administratif

Mme Virginie SADÉ – Assistante secrétariat.

ANNEXE 3

Suivi des actualisations de l'avis

Date	Page	Description de la modification
27 juillet 2022		Première version signée de l'avis de l'Anses.
30 septembre 2022	11	<u>Version du 27 juillet 2022</u> Note de bas de page n°8 : Règlement d'exécution (UE) n°540/2011 de la commission du 25 mai 2011 portant application du règlement (CE) n°1107/2009 du Parlement européen et du Conseil, en ce qui concerne la liste des substances actives approuvées. <u>Version révisée</u> Note de bas de page n°9 : Règlement (CE) n°1107/2009 du Parlement européen et du Conseil du 21 octobre 2009 concernant la mise sur le marché des produits phytopharmaceutiques et abrogeant les directives 79/117/CEE et 91/414/CEE du Conseil (version consolidée du 27 mars 2021) https://eur-lex.europa.eu/legal-content/FR/TXT/PDF/?uri=CELEX:02009R1107-20210327&from=EN .
30 septembre 2022	14	<u>Version du 27 juillet 2022</u> Règlement d'exécution (UE) n°540/2011 de la commission du 25 mai 2011 portant application du règlement (CE) n°1107/2009 du Parlement européen et du Conseil, en ce qui concerne la liste des substances actives approuvées. <u>Version révisée</u> Règlement (CE) n°1107/2009 du Parlement européen et du Conseil du 21 octobre 2009 concernant la mise sur le marché des produits phytopharmaceutiques et abrogeant les directives 79/117/CEE et 91/414/CEE du Conseil (version consolidée du 27 mars 2021).