

Maisons-Alfort, le 29 avril 2014

LE DIRECTEUR GENERAL

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

**relatif à une demande d'appui scientifique et technique en vue  
de la délivrance d'une dérogation 120 jours (Article 53) pour un usage sur épinard  
de la préparation phytopharmaceutique ASULOX, à base d'asulame**

---

*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 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 rendus publics.*

---

L'Agence a été saisie le 17 avril 2014 par la Direction générale de l'alimentation (DGAL) d'une demande d'appui scientifique et technique concernant l'évaluation des données résidus sur épinard de l'asulame.

### **1. CONTEXTE ET OBJET DE LA SAISINE**

L'asulame est une substance active herbicide dont l'évaluation au niveau européen a fait l'objet de conclusions de l'EFSA<sup>1</sup> (2010<sup>2</sup>) qui ont conduit à la non approbation<sup>3</sup> de cette substance au titre du règlement (CE) n°1107/2009<sup>4</sup>. L'ensemble des autorisations des préparations contenant cette substance active a donc été retiré au plus tard le 31 décembre 2012.

Un avis motivé de l'EFSA (2013<sup>5</sup>) présente un bilan des limites maximales de résidus (LMR) de l'asulame, dans le cadre de l'article 12 du règlement CE N° 396/2005<sup>6</sup>. La substance n'étant pas autorisée en Europe, l'EFSA recommande de fixer toutes les LMR à 0,1 mg/kg.

---

<sup>1</sup> EFSA : Autorité européenne de sécurité des aliments.

<sup>2</sup> EFSA, 2010. Conclusion on the peer review of the pesticide risk assessment of the active substance asulame, EFSA Journal 2010;8(12):1822. [71 pp.]. doi:10.2903/j.efsa.2010.1822.

<sup>3</sup> Règlement d'exécution (UE) n° 1045/2011 de la Commission du 19 octobre 2011 concernant la non-approbation de la substance active asulame, conformément au règlement (CE) n° 1107/2009 du Parlement européen et du Conseil concernant la mise sur le marché des produits phytopharmaceutiques, et modifiant la décision 2008/934/CE de la Commission (Texte présentant de l'intérêt pour l'EEE).

<sup>4</sup> 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.

<sup>5</sup> EFSA, 2013; Reasoned opinion on the review of the existing maximum residue levels (MRLs) for asulame according to Article 12 of Regulation (EC) No 396/2005. EFSA Journal 2013;11(5):3230, 19 pp. doi:10.2903/j.efsa.2013.3230

<sup>6</sup> Règlement (CE) n°396/2005 du parlement européen et du Conseil du 23 février 2005 concernant les limites maximales applicables aux résidus de pesticides présents dans ou sur les denrées alimentaires et les aliments pour animaux d'origine végétale et animale et modifiant la directive 91/414/CEE du Conseil.

Récemment, la société UPL (United Phosphorus Limited) a déposé un nouveau dossier de demande d'approbation pour l'asulame. L'Etat membre rapporteur est le Royaume-Uni. Ce dossier est en cours d'évaluation et le projet de monographie rédigé par les autorités du Royaume-Uni n'est pas encore disponible.

En France, les producteurs d'épinards ont sollicité une demande de dérogation d'usage dans le cadre de l'article 53 du Règlement (CE) n°1107/2009 pour que la préparation ASULOX (à base d'asulame 400 g/L) puisse être utilisée en désherbage de l'épinard afin de contrôler certaines adventices préoccupantes. Les conditions d'emploi revendiquées sont les suivantes : une application à la dose de 2,4 kg/ha d'asulame, effectuée en pré-émergence ou en post-émergence jusqu'au stade 2 à 4 feuilles (BBCH 12-14). Le délai avant récolte (DAR) revendiqué est de 28 jours.

La société UPL a fourni à la Direction générale de l'alimentation (DGAL) une copie du projet soumis au Royaume Uni et l'ensemble des études correspondantes.

La DGAL a demandé à l'Anses d'évaluer ces éléments afin de vérifier l'absence de risques inacceptables pour le consommateur liés aux usages potentiels de l'asulame sur épinard dans les conditions revendiquées.

## **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 a été réalisée par les Unités « résidus et sécurité des aliments » et « Physico-chimie et méthodes d'analyse » de la Direction des produits réglementés, sur la base de la méthodologie en vigueur pour évaluer les résidus de substance active phytopharmaceutique au niveau européen (document SANCO 1607/VI/97 rev.2). Le Comité d'experts spécialisé "Produits phytopharmaceutiques : substances et préparations chimiques" a été consulté le 29 avril 2014.

## **3. DONNEES DISPONIBLES POUR L'EVALUATION**

### **3.1 Données disponibles sur la base de l'évaluation européenne de l'asulame**

L'évaluation de l'asulame au niveau européen a été conduite par l'EFSA et les conclusions ont été publiées en 2010. L'usage représentatif était le désherbage de l'épinard suite à une application de 2,4 kg/ha d'asulame effectuée au stade 4 feuilles (BBCH 14). Le métabolisme de l'asulame a été évalué sur épinard sous serre. Quatorze jours après application, les principaux métabolites identifiés ont été l'asulame (77% de la TRR<sup>7</sup>), le malonyl asulame (9% de la TRR), l'asulam-glucoside (7% de la TRR) et les dimères 1 et 2 de l'asulame (4% and 2% de la TRR respectivement). Une étude de métabolisme sur ray grass a également été soumise dans le dossier initial, mais jugée de qualité médiocre et n'a donc pas été retenue. Une étude de métabolisme dans les cultures suivantes a également été évaluée. Elle a montré la présence d'autres métabolites dans les racines de radis, notamment : acetyl asulame, sulfanilamide, 4-acetyl benzene sulfanilamide et acide sulfanilique.

Sur la base de ces données, le résidu pour la surveillance et le contrôle pouvait être défini comme la somme de l'asulame et du malonyl-asulame. Aucune définition du résidu pour l'évaluation du risque pour le consommateur n'a pu être établie sur la base de ces études. En effet, les analyses de métabolites ont été effectuées uniquement 14 jours après application, et donc, dans des

<sup>7</sup> Total Recovered Radioactivity = Radioactivité totale retrouvée

conditions peu représentatives de la pratique agricole revendiquée. Par ailleurs, les études de stabilité au stockage montraient une apparition du conjugué malonyl, sans que la présence de gluco-conjugués n'ait été évaluée. Dans les essais mesurant les teneurs en résidus dans les épinards réalisés au Nord (7 essais) et au Sud (2 essais) de l'Europe, seuls les composés asulame et malonyl-asulame avaient été mesurés et des corrections des niveaux de résidus avaient été faites pour tenir compte de la dégradation de l'asulame en fonction de la durée de stockage. Enfin, en conditions d'hydrolyse, du sulfanilamide ou son conjugué malonyl sont formés. Aucun élément portant sur la toxicité du sulfanilamide n'avait été fourni, alors que ce composé semble plus toxique que le composé parent asulame.

Sur la base des teneurs en résidu d'asulame et de N-malonyl-asulame dans les épinards, le risque aigu atteignait 80 % de l'ARfD<sup>8</sup> pour les populations les plus exposées. Du fait des incertitudes sur la définition du résidu, un risque aigu ne pouvait donc être exclu pour ces populations. De même, aucune donnée sur les métabolites, potentiellement plus toxiques (sulfanilamide et ses conjugués), n'étant disponible, le risque lié à ces composés n'a pu être finalisé lors de la revue par les pairs.

En résumé, les points bloquants de l'évaluation demandée par la DGAL sont, sur la base des données fournies dans le dossier initial :

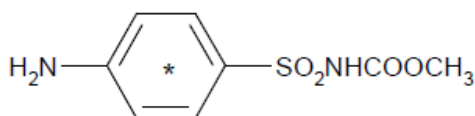
- L'absence de stabilité de l'asulame au stockage dans les échantillons : après 75 jours, le N-malonyl-asulame apparaît et d'autres conjugués pourraient être formés ;
- La possibilité de présence de sulfanilamide ou de ses conjugués dans les produits traités, ou sa possibilité d'apparition, suite à l'hydrolyse de l'asulame ou de ses autres métabolites, lors de la transformation industrielle ou domestique (cuisson) des denrées traitées.

### 3.2 Données additionnelles fournies dans le cadre de la demande

Dans le cadre de sa demande, la DGAL a communiqué à l'Agence l'ensemble des éléments redéposés auprès du Royaume-Uni en vue de l'approbation de l'asulame.

#### 3.2.1 Données additionnelles portant sur le métabolisme de l'asulame

Une nouvelle étude de métabolisme réalisée sur épinard est disponible. Elle a été déposée dans le cadre du nouveau dossier d'approbation de la substance active. Cette étude a été conduite en appliquant 2,4 kg/ha d'asulame radio-marqué sur le noyau phényl sur la culture au stade BBCH 14 (4 feuilles).



**Sur épinard**, représentant des légumes feuilles, des prélèvements ont été effectués 0, 7, 14, 21 et 28 jours après le traitement. Les composés retrouvés en fonction des prélèvements effectués jusqu'à 21 jours après application sont résumés dans le tableau ci-dessous :

<sup>8</sup> La dose de référence aiguë (ARfD) d'un produit chimique est la quantité estimée d'une substance présente dans les aliments ou l'eau de boisson, exprimée en fonction du poids corporel, qui peut être ingérée sur une brève période, en général au cours d'un repas ou d'une journée, sans risque appréciable pour la santé du consommateur, compte tenu de tous les facteurs connus au moment de l'évaluation. Elle est exprimée en milligrammes de substance chimique par kilogramme de poids corporel (OMS, 1997).

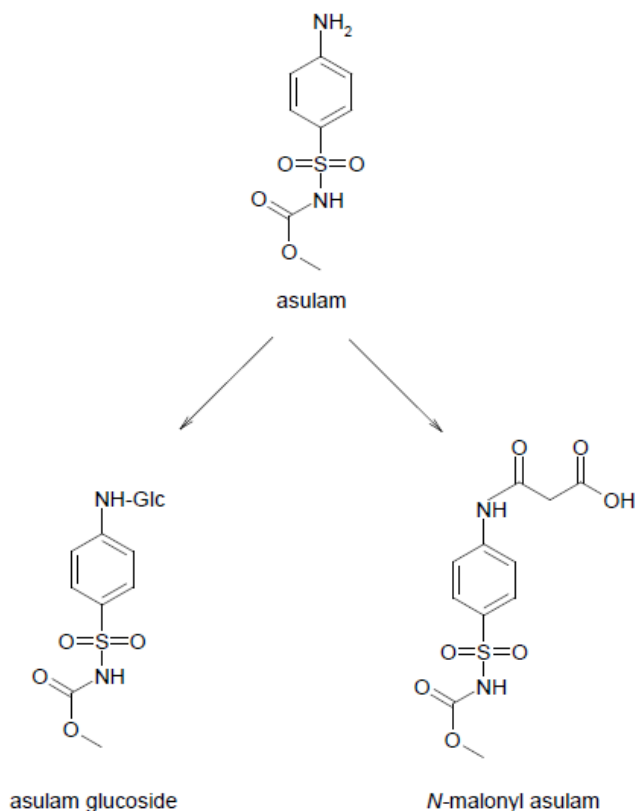
Composé	Fraction	TRR	Jours après traitement			
			0	7	14	21
Asulame	Lavage	% TRR mg/kg	84,2 151,2	0,4 0,082	0,2 0,012	2,7 0,038
	Extrait	% TRR mg/kg	11,4 20,49	20,7 3,886	26,8 1,456	18,9 0,269
	<b>Total</b>	<b>% TRR mg/kg</b>	<b>95,6 171,7</b>	<b>21,1 3,968</b>	<b>27,0 1,468</b>	<b>21,6 0,307</b>
Asulame Glucosylé	Lavage	% TRR mg/kg	nd nd	0,1 0,012	0,1 0,003	nd nd
	Extrait	% TRR mg/kg	0,6 1,068	26,3 4,954	11,6 0,634	1,7 0,024
	<b>Total</b>	<b>% TRR mg/kg</b>	<b>0,6 1,068</b>	<b>26,4 4,966</b>	<b>11,7 0,637</b>	<b>1,7 0,024</b>
N-malonyl asulame	Lavage	% TRR mg/kg	nd nd	0,3 0,054	0,3 0,015	1,0 0,015
	Extrait	% TRR mg/kg	0,8 1,501	35,4 6,654	50,7 2,758	53,7 0,762
	<b>Total</b>	<b>% TRR mg/kg</b>	<b>0,8 1,501</b>	<b>35,6 6,708</b>	<b>51,0 2,772</b>	<b>54,8 0,777</b>
Autres <sup>1</sup> (Total)	Lavage	% TRR mg/kg	2,1 3,689	1,2 0,221	0,9 0,050	2,3 0,032
	Extrait	% TRR mg/kg	0,6 1,107	9,6 1,816	5,2 0,284	11,2 0,159
	<b>Total</b>	<b>% TRR mg/kg</b>	<b>2,7 4,796</b>	<b>10,8 2,036</b>	<b>6,1 0,334</b>	<b>13,5 0,192</b>

<sup>1</sup> Somme des composés qui n'ont pas été analysés par LC-MS (faible densité) et qui ne correspondent à aucune des références disponibles en HPLC/TLC. Aucun de ces composés n'excède 6,8% de la TRR (somme du lavage et de l'extrait). Le nombre de ces composés mineurs est de : 1, 12, 7 et 5 dans les lavages, et 1, 4, 2 et 3 dans les extraits à 0, 7, 14 et 21 jours, respectivement.  
nd: non détecté.

21 jours après application, l'asulame et le métabolite N-malonyl-asulame ont été les composés retrouvés en plus grandes quantités (21,6% 0,307 mg eq. <sup>9</sup>/kg ; 54,8% 0,777 mg eq./kg respectivement). L'asulame glucosylé apparaît comme un composé important 7 jours après application (26,4 % de la TRR, 4,97 mg eq./kg) puis diminue et ne représente plus que 1,7% de la TRR (0,024 mg eq./kg) 21 jours après traitement. La quantité de radioactivité non extraite était de 11,8 % au maximum. Aucun des composés non identifié n'excède 6.8% de la TRR.

Sur la base de cette étude, les voies de transformations suivantes sont proposées pour l'asulame dans l'épinard :

<sup>9</sup> mg eq./kg : mg en équivalent du composé parent par kg de matrice



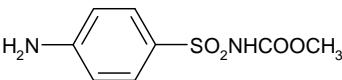
Cette étude de métabolisme est plus représentative des pratiques culturales sur épinard que ne l'était l'étude disponible lors de la précédente évaluation européenne.

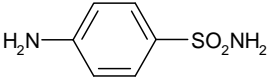
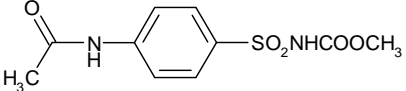
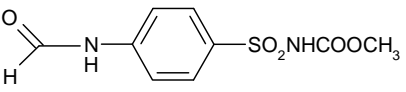
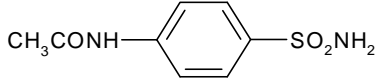
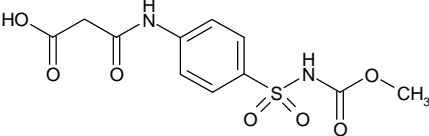
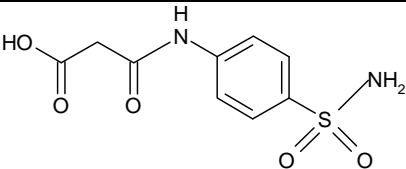
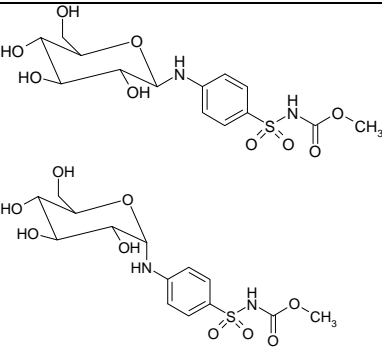
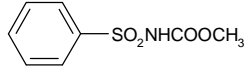
### 3.2.2 Données additionnelles portant sur les niveaux de résidus dans les épinards.

Deux études, résumant 9 essais sur épinard, implantés dans le Nord de l'Europe, ont également été fournies. Les applications d'asulame ont été effectuées en respectant les mêmes pratiques que celles envisagées : une application en pré-émergence (BBCH 00) ou une application en post-émergence effectuée au stade BBCH 12-14 (2-4 feuilles) à la dose de 2,4 kg/ha d'asulame, avec un délai avant récolte de 28 jours.

Dans ces essais, les niveaux de résidus en asulame et ses principaux métabolites identifiés dans l'étude de métabolisme (*N*-malonyl-asulame et asulame glucosylé) ont été mesurés. Six métabolites supplémentaires ont également été dosés (*N*-acétyl-asulame, acetyl sulfanilamide, desamino-asulame, *N*-formyl asulame, malonyl sulfanilamide et sulfanilamide).

Les méthodes d'analyse pour ces composés sont totalement validées dans les épinards frais, pour des limites de quantification (LOQ) de 0.01 mg/kg sur l'ensemble des métabolites excepté pour le malonyl sulfanilamide pour lequel la LOQ est de 0.05 mg/kg.

Structure et nom chimique	Autre nom	Masse molaire (g/mol)
 Methyl sulphanilylcarbamate	Asulame	252,02

Structure et nom chimique	Autre nom	Masse molaire (g/mol)
 <p>4-Aminobenzenesulphonamide</p>	sulfanilamide	172,21
 <p>Methyl [(4-acetamidophenyl)sulphonyl]carbamate</p>	Acetyl asulame	273,28
 <p>Methyl [(4-formylamino)phenyl] sulfonyl carbamate</p>	Formyl asulame	258,25
 <p>N-(4-Sulphamoylphenyl)acetamide</p>	Acetyl sulfanilamide	214,24
 <p>4-(N-methoxycarbonylsulphamoyl)phenylcarbamoyl acetic acid</p>	Malonyl-asulame	316,29
 <p>4-Sulphamoylphenylcarbamoylacetic Acid</p>	Malonyl-sulfanilamide	258,03
 <p>Asulame glucosides</p>	Asulame-glc	392,38
 <p>Methyl phenylsulphonylcarbamate</p>	Desamino asulame	215,03

Les niveaux de résidus (mg/kg) des différents métabolites dosés dans ces essais sont résumés dans le tableau suivant :

**Avis de l'Anses**  
**Saisine n° 2014-SA-0101**

Application	Matrice	DAR (jours)	Asulame	Acetyl asulame	Asulame glucoside	Acetyl sulfanilamide	Desamino asulame	Formyl asulame	Malonyl asulame	Malonyl sulfanilamide	Sulfanilamide
Masse molaire (g/mol)			252.0	272.3	392.4	214.2	215.0	258.3	316.3	258.0	172.2
Pré-levée	Jeunes pousses	44	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01	0.106	<0.05	<0.01
	Épinard	58	<0.01	<0.01	0.013	<0.01	<0.01	<0.01	0.086	<0.05	<0.01
	Jeunes pousses	42	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01	<0.05	<0.01
	Épinard	50	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01	<0.05	<0.01
	Jeunes pousses	47	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01	0.039	<0.05	<0.01
	Épinard	54	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01	0.0293	<0.05	<0.01
	Jeunes pousses	33	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01	<0.05	<0.01
	Épinard	47	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01	<0.05	<0.01
Post-levée	Jeunes pousses	15	0.071	0.019	3.18	<0.01	<0.01	0.030	3.12	<0.05	<0.01
	Épinard	23	<0.01	<0.01	0.068	<0.01	<0.01	<0.01	0.173	<0.05	<0.01
	Jeunes pousses	21	0.062	0.052	3.44	<0.01	<0.01	0.029	9.04	<0.05	<0.01
	Épinard	35	<0.01	<0.01	0.057	<0.01	<0.01	<0.01	0.538	<0.05	<0.01
	Jeunes pousses	14	0.078	<0.01	5.44	<0.01	<0.01	<0.01	3.16	<0.05	<0.01
	Épinard	28	<0.01	<0.01	0.200	<0.01	<0.01	<0.01	0.304	<0.05	<0.01
	Jeunes pousses	20	0.011	<0.01	0.931	<0.01	<0.01	0.011	1.61	<0.05	<0.01
	Épinard	27	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01	<0.05	<0.01
	Epinard	27	<0.01	<0.01	0.064	<0.01	<0.01	<0.01	0.275	<0.05	<0.01

Après une application en pré-émergence (4 essais), le malonyl-asulame est quantifié dans les pousses d'épinard (33-47 jours après traitement) et au moment de la récolte (47-58 jours après traitement). Le composé asulame glucosylé est quantifié dans un seul échantillon au moment de la récolte. Pour l'asulame et tous les autres composés, les niveaux de résidus dans les épinards (jeunes pousses et à la récolte) sont tous inférieurs à la limite de quantification des méthodes d'analyse utilisées.

Après une application en post-émergence (5 essais), l'asulame, l'acetyl-asulame et le formyl asulame ne sont quantifiés<sup>10</sup> que dans les jeunes pousses (14-20 jours après traitement) mais pas au moment de la récolte (23-35 jours après traitement). La teneur en composé parent atteint dans ces essais un maximum de 0.078 mg/kg sur jeunes pousses.

Par conséquent, les données disponibles montrent que les bonnes pratiques agronomiques (BPA) envisagées permettront de respecter la LMR en vigueur sur épinard, fixée par le règlement (CE) No 149/2008 à 0,5 mg/kg d'asulame.

Les composés malonyl asulame et asulame glucosylé sont retrouvés dans 80% des échantillons. Les niveaux des composés acetyl sulfanilamide, desamino-asulame, malonyl sulfanilamide et sulfanilamide sont tous inférieurs à la limite de quantification des méthodes d'analyse utilisées.

### **3.2.3 Données additionnelles portant sur les niveaux de résidus dans les épinards lors de la transformation industrielle ou domestique.**

#### 1. Nature du résidu : problématique sulfanilamide initiale

Lors de l'évaluation européenne, une étude de caractérisation des résidus dans des conditions de pasteurisation, de cuisson et de stérilisation a été évaluée. Cette étude a été conduite avec l'asulame et l'asulam malonyl, tous deux radio-marqués sur le noyau phényl.

Les résultats sont présentés dans le tableau suivant :

	Conditions d'hydrolyse		
	pH4, 90°C, 20 min pasteurisation	pH5, 100°C, 60 min cuisson	pH6, 120°C, 20 min sterilisation
Asulame	75 %	39 %	48 %
Sulfanilamide	23 %	62 %	49 %
Asulam-malonyl	95 %	75 %	70 %
Sulfanilamide-malonyl	7 %	26 %	27 %

L'asulame et l'asulam malonyl se dégradent dans les conditions d'hydrolyse représentatives des procédés de transformations industrielles et domestiques pour former le métabolite sulfanilamide ou son dérivé malonyl.

Sur la base de ces données, lors de l'évaluation européenne, des données supplémentaires ont été demandées concernant la possibilité de présence de sulfanilamide ou de ses conjugués dans les produits traités, ou sa possibilité d'apparition, suite à l'hydrolyse de l'asulame ou de ses autres métabolites, lors de la transformation industrielle ou domestique (cuisson) des denrées traitées. En effet, aucune donnée sur la toxicité spécifique sur la sulfanilamide n'est disponible et des données complémentaires auraient été nécessaires compte tenu de sa présence en faible quantité (4% incluant la forme acétyl) dans le métabolisme du rat.

#### 2. Niveaux de résidus

Pour apporter des éléments de réponse à ces questionnements, une étude résumant 4 essais et permettant de quantifier les résidus suite à des procédés de transformation industrielle de l'épinard a été fournie. Parmi les essais présentés, un a été réalisé avec une application plus tardive (stade d'application BBCH 43) que la pratique revendiquée et un autre concerne les transformations sur baby spinach pour permettre la quantification des composés.

<sup>10</sup> non quantifié : inférieur à la limite de quantification (LOQ) de la méthode d'analyse.



Dans ces essais, les mêmes composés que précédemment ont été dosés (asulame, *N*-malonyl-asulame, asulame glucosylé, *N*-acétyl-asulame, acetyl sulfanilamide, desamino-asulame, *N*-formyl asulame, malonyl sulfanilamide et sulfanilamide). Ces composés ont été mesurés dans les épinards frais, les épinards en conserve et l'eau de saumurage, les épinards cuits à l'eau et les épinards surgelés. Les résultats sont résumés dans le tableau suivant :

**Avis de l'Anses**  
**Saisine n° 2014-SA-0101**

Culture, pays, année	Matrice épinard kg s.a./ha (BBCH)	Niveaux de résidus (mg/kg ou mg/L pour l'eau de saumure)										Remarque
			Asulame	Acetyl asulame	Asulame glucoside	Acetyl sulfanilamide	Desamino asulame	Formyl asulame	Malonyl asulame	Malonyl sulfanilamide	Sulfanilamide	
Epinard, N France, 2013	2,252 (14)	Épinards (denrée brute)	0.026	<0.01	4.82	<0.01	<0.01	0.016	3.24	<0.05	<0.01	(jeunes pousses) <sup>1</sup> Récolte 14 j après application
		Épinards en conserve	0.013	<0.01	0.844	<0.01	0.014	<0.01	0.808	<0.05	<0.01	
		Eau de saumure	0.087	<0.002	1.24	0.021	<0.002	0.005	1.01	<0.01	0.019	
		Epinards cuits	0.044	<0.01	1.13	<0.01	<0.01	<0.01	0.866	<0.05	<0.01	
		Epinards surgelés	0.014	<0.01	2.18	<0.01	0.012	<0.01	1.43	<0.05	<0.01	
Epinard, N France, 2013	2,252 (14)	Épinards (denrée brute)	<0.01	<0.01	0.092	<0.01	<0.01	<0.01	0.339	<0.05	<0.01	(épinard mature) Récolte 28 j après application
		Épinards en conserve	<0.01	<0.01	0.029	<0.01	<0.01	<0.01	0.174	<0.05	<0.01	
		Eau de saumure	0.008	<0.002	0.026	<0.01	<0.002	<0.002	0.242	<0.01	<0.01	
		Epinards cuits	<0.01	<0.01	0.032	<0.01	<0.01	<0.01	0.212	<0.05	<0.01	
		Epinards surgelés	<0.01	<0.01	0.071	<0.01	<0.01	<0.01	0.212	<0.05	<0.01	
Epinard, N France, 2013	2,403 (43)	Épinards (denrée brute)	0.796	0.161	21.0	<0.01	0.016	0.111	12.3	0.031	<0.01	(épinard mature) <sup>2</sup> Récolte 14 j après application
		Épinards en conserve	0.408	0.102	5.20	<0.01	0.377	0.082	7.70	0.083	<0.01	
		Eau de saumure	1.20	0.038	5.75	0.028	0.004	0.064	14.4	0.084	0.232	
		Epinards cuits	0.674	0.120	9.61	<0.01	0.122	0.106	7.62	0.077	0.021	
		Epinards surgelés	0.778	0.141	12.9	<0.01	0.049	0.105	9.84	0.052	0.014	
Epinard, N France, 2013	2,316 (14)	Épinards (denrée brute)	<0.01	<0.01	0.064	<0.01	<0.01	<0.01	0.275	<0.05	<0.01	<sup>3</sup> (épinard mature) Récolte 27 j après application
		Épinards en conserve	<0.01	<0.01	0.014	<0.01	<0.01	<0.01	0.153	<0.05	<0.01	
		Eau de saumure	0.008	<0.002	0.011	<0.01	<0.002	0.003	0.145	<0.01	<0.01	
		Epinards cuits	<0.01	<0.01	0.015	<0.01	<0.01	<0.01	0.095	<0.05	<0.01	
		Epinards surgelés	<0.01	<0.01	0.054	<0.01	<0.01	<0.01	0.228	<0.05	<0.01	

1 – Transformation sur jeunes pousses pour permettre la quantification des composés, essai non représentatif des denrées brutes consommées.

2 – Transformation sur épinard traité avec une application plus tardive (stade d'application BBCH 43) que la pratique envisagée, essai non représentatif des denrées brutes consommées.

3 – Essai réalisé pour les transformations industrielles.

Les méthodes d'analyse pour ces composés sont totalement validées dans les épinards frais et transformés. En revanche, les méthodes d'analyse de l'eau de saumure, ne sont totalement validées que pour l'acétyl sulfanilamide et le sulfanilamide. Les données dans cette matrice n'ont pas été prises en compte, mais l'eau de cuisson (ou de saumure) n'est pas systématiquement consommée.

a) Teneur en sulfanilamide dans les produits issus de la transformation de l'épinard

Les résultats concernant les teneurs (mg/kg ou mg/L pour eau de saumure) en composés sulfanilamide dans les échantillons prélevés dans les trois essais de transformations industrielles réalisées selon les pratiques agricoles proches de celles envisagées (application au stade BBCH 14) sont résumés dans le tableau suivant.

N° de l'essai	Pratiques agricoles et transformation	Matrices	Acétyl sulfanilamide	Malonyl sulfanilamide	Sulfanilamide
1	BBCH 14 Jeunes pousses	jeunes pousses (denrée brute)	<0.01	<0.05	<0.01
		Épinards en conserve	<0.01	<0.05	<0.01
		Eau de saumure	0.021	<0.01*	0.019
		Epinards cuits	<0.01	<0.05	<0.01
		Epinards surgelés	<0.01	<0.05	<0.01
2	BBCH 14 Épinard	Épinards frais (denrée brute)	<0.01	<0.05	<0.01
		Épinards en conserve	<0.01	<0.05	<0.01
		Eau de saumure	<0.01	<0.01	<0.01
		Epinards cuits	<0.01	<0.05	<0.01
		Epinards surgelés	<0.01	<0.05	<0.01
4	BBCH 14 Épinard	Épinards frais (denrée brute)	<0.01	<0.05	<0.01
		Épinards en conserve	<0.01	<0.05	<0.01
		Eau de saumure	<0.01	<0.01	<0.01
		Epinards cuits	<0.01	<0.05	<0.01
		Epinards surgelés	<0.01	<0.05	<0.01

\* en italique valeur indicative (méthode d'analyse non totalement validée)

Dans les 2 essais de transformations industrielles réalisés selon les pratiques agricoles envisagées et sur épinard mature (essais 2 et 4 du tableau précédent : application à BBCH 14 et récolte 28 jours après application), aucun composé sulfanilamide n'est quantifié.

Dans l'essai de transformation conduit sur jeunes pousses (application à BBCH 14 et récolte 14 jours après application), le sulfanilamide est quantifié seulement dans l'eau de cuisson. Dans les produits transformés consommables (épinards cuits, en conserve et surgelés), aucun des 3 métabolites (sulfanilamide, acétyl sulfanilamide et malonyl sulfanilamide) n'est quantifié.

Dans l'essai réalisé avec une application au stade BBCH 43 et récolte 14 jours après application, des résultats différents sont constatés. Les teneurs (mg/kg ou mg/L pour eau de saumure) en composés sulfanilamide mesurées dans ces conditions sont présentées dans le tableau suivant.

N° de l'essai	Pratiques agricoles et transformation	Matrices	Acetyl sulfanilamide	Malonyl sulfanilamide	Sulfanilamide
3	BBCH 43 Épinard	Épinards frais (denrée brute)	<0.01	0.031	<0.01
		Épinards en conserve	<0.01	0.083	<0.01
		Eau de saumure	0.028	<i>0.084*</i>	0.232
		Epinards cuits	<0.01	0.077	0.021
		Epinards surgelés	<0.01	0.052	0.014

\* en italique valeur indicative (méthode d'analyse non totalement validée)

Dans cet essai, le malonyl sulfanilamide est présent et quantifié dans la denrée brute alors qu'il n'apparaissait pas dans l'étude de métabolisme réalisée avec une application au stade BBCH 14.

De même, le sulfanilamide apparaît dans l'eau de cuisson, les épinards cuits et surgelés, alors qu'il n'était pas présent dans la denrée brute.

Les composés dérivés du sulfanilamide et ceux dérivés de l'asulame étant quantifiables, les niveaux de résidus de chacun des composés ont été rapportés en équivalent asulam afin d'être comparés entre eux et additionnés. Les masses molaires ci après ont été utilisées.

Asulame:	MM = 252,02	
Malonyl asulame:	MM = 316,29	Facteur de correction = 252,02/316,29 = x0,7968
Acetyl asulame:	MM = 272,28	Facteur de correction = 252,02/272,28 = x0,9256
Asulame glucosides:	MM = 392,38	Facteur de correction = 252,02/392,38 = x0,6423
Formyl asulame:	MM = 258,25	Facteur de correction = 252,02/258,25 = x0,9759
Desamino asulame:	MM = 215,03	Facteur de correction = 252,02/215,03 = x1,1720
Acetyl sulfanilamide:	MM = 214,24	Facteur de correction = 252,02/214,24 = x1,1763
Malonyl sulfanilamide:	MM = 258,03	Facteur de correction = 252,02/258,03 = x0,9767
Sulfanilamide:	MM = 172,21	Facteur de correction = 252,02/172,21 = x1,4634

Le tableau suivant résume le ratio entre dérivés de l'asulame et dérivés du sulfanilamide :

N° de l'essai	Matrices	Somme des dérivés de l'asulam (asulam + acetyl asulam + malonyl asulam + formyl asulam + desamino asulam) exprimée en asulam (mg/kg)	Somme des dérivés sulfanilamide (acetyl sulfanilamide + malonyl sulfanilamide + sulfanilamide) exprimée en asulam (mg/kg)	Proportion dérivés sulfanilamide par rapport aux dérivés de l'asulam (en %)
4	Épinards frais (denrée brute)	24,361	0,057	0
	Épinards en conserve	10,500	0,107	1
	Eau de saumure	<i>16,469</i>	<i>0,455*</i>	3
	Epinards cuits	13,275	0,118	1
	Epinards surgelés	17,194	0,083	0

\* en italique valeur indicative (méthode d'analyse non totalement validée pour le malonyl sulfanilamide et les composés de l'asulame)

Par rapport aux niveaux attendus d'après l'étude radiomarquée (23 à 62 % de transformation de l'asulame en sulfanilamide, et 7 à 27 % de transformation d'asulame malonyl en sulfanilamide malonyl), cette étude montre que les dérivés du sulfanilamide atteignent au plus 3% de l'ensemble des composés de l'asulame. Cette valeur n'est qu'indicative, les méthodes analytiques n'étant pas

totallement validées, mais l'exposition du consommateur via l'eau de cuisson peut être considérée comme négligeable.

Par conséquent, ces 4 essais mettent en évidence que :

- Dans les 2 essais conduits sur épinard conformément aux BPA proches de celles envisagées, le sulfanilamide et ses dérivés ne sont pas quantifiables ;
- Dans l'essai où le stade d'application envisagé est respecté, mais où la récolte est effectuée 14 jours après application (jeunes pousses), le sulfanilamide n'est quantifiable que dans l'eau de cuisson, dans laquelle il atteint un maximum de 0,02 mg/kg ;
- Dans l'essai conduit selon des BPA plus critiques que celles revendiquées et que celles de l'étude de métabolisme (application au stade BBCH 43 et récolte 14 jours après application) :
  - o le sulfanilamide est quantifiable dans la denrée brute ;
  - o il est présent, ainsi que ses dérivés, dans tous les produits de transformation ;
  - o il reste, en proportion, à des niveaux nettement moins importants que ceux attendus d'après les études d'hydrolyse (3% des composés asulame au maximum dans l'eau de cuisson et 1% au plus dans les produits consommables).

Par conséquent, pour des applications effectuées conformément aux BPA revendiquées (application au stade BBCH 14 et récolte 28 jours après application), aucun résidu quantifiable de sulfanilamide ou de ses dérivés n'est attendu dans les produits issus de la transformation.

Ces études mettent en évidence que les composés du sulfamide peuvent apparaître si les conditions d'application ne sont pas scrupuleusement respectées (application au plus tard au stade BBCH 14 et récolte 28 jours après application).

L'application d'asulame ne devra donc pas être autorisée pour une récolte précoce (moins de 28 jours après traitement), ni en application au-delà du stade BBCH 14 dans le cadre d'une production destinée à la transformation.

### **3.2. Données additionnelles portant sur la stabilité des résidus dans l'épinard.**

Aucune donnée additionnelle n'a été fournie dans ce domaine. Toutefois, en ce qui concerne les essais sur épinard, les analyses ont été effectuées moins de 30 jours après le prélèvement des échantillons, délai trop court pour qu'une dégradation des résidus au stockage ait pu se produire.

#### 4. CONCLUSIONS DE L'AGENCE

Les données évaluées dans le cadre de cette saisine ont permis de lever certaines incertitudes concernant le risque pour le consommateur lié à l'application d'asulame sur épinard :

- Une étude de métabolisme sur épinard représentative des conditions revendiquées pour une application en post-émergence (stade BBCH 12-14) a été fournie et a permis d'identifier les métabolites qui pourraient être formés suite à une application d'asulame sur épinard, et seraient donc potentiellement inclus dans la définition du résidu pour évaluer le risque pour le consommateur.
- Afin de pallier le manque de stabilité au stockage de l'asulame, les échantillons prélevés dans les essais sur épinard ont été analysés moins de 30 jours après les prélèvements.
- Les 9 essais mesurant les teneurs en résidus au champ réalisés sur la culture ont permis de montrer que, suite à une application de 2,4 kg/ha d'asulame :
  - L'application en post-émergence est plus critique que l'application en pré-émergence ;
  - Lorsque la récolte est effectuée 28 jours après une application effectuée en pré-émergence ou au stade BBCH 12-14, le composé parent n'est pas quantifiable ;
  - Les seuls métabolites quantifiés à la récolte, pour un DAR de 28 jours, sont ceux identifiés dans l'étude de métabolisme et pouvant entrer dans la définition du résidu ;
  - Les autres composés potentiellement préoccupants (sulfanilamide libre et conjugué) ne sont pas quantifiés dans les épinards à la récolte si l'application est effectuée au plus tard au stade BBCH 14.
- Les 4 essais mesurant les teneurs en résidus lors des procédés de transformation industrielle réalisés sur la culture ont permis de montrer que :
  - Les niveaux de résidus d'asulame total diminuent dans tous les produits transformés de l'épinard (en conserve, cuits, surgelés) ;
  - Les autres composés potentiellement préoccupants (sulfanilamide libre et conjugué) ne sont pas quantifiés dans les épinards transformés **si l'application et la récolte sont réalisées dans les conditions d'application envisagées (application au plus tard au stade 4 feuilles et récolte effectuée 28 jours après application).**

Le niveau d'exposition des différents groupes de consommateurs européens a été estimé en utilisant le modèle PRIMo Rev 2-0 (Pesticide Residue Intake Model) développé par l'EFSA.

Compte-tenu des limites des essais sur épinards concernant les résidus disponibles lors de la première évaluation européenne, ceux-ci n'avaient pas été pris en compte pour l'évaluation du risque. Dans les nouveaux essais, les différents métabolites identifiés dans l'étude de métabolisme et 5 métabolites supplémentaires ont été dosés. Seuls les 5 essais réalisés selon les pratiques agricoles envisagées (post émergence) ont été pris en compte pour l'évaluation du risque.

Dans une approche pire cas, l'ensemble des composés mesurés dans les essais dans les jeunes pousses ont été pris en compte (4 essais). Les niveaux de résidus de chacun des composés contenant la partie asulame sont présentés dans le tableau ci-dessous (en mg/kg). Ils ont été rapportés en équivalent parent et additionnés afin de calculer des niveaux de résidus d'asulame total, présentés dans la dernière colonne.

Les résidus non quantifiés des dérivés de l'asulame ont été considérés à la limite de quantification des méthodes d'analyse utilisées.

En revanche, les dérivés du sulfanilamide, tous inférieurs à la limite de quantification, et non attendus pour des applications conduites conformément aux BPA envisagées (d'après l'étude de métabolisme et les données de transformation), n'ont pas été pris en compte.

Matrice	Asulame	Acetyl asulame	Asulame glucoside	Desamino asulame	Formyl asulame	Malonyl asulame	Residu en asulame total*
Épinard - jeunes pousses (Baby spinach) – traitement post-émergence (BBCH 14)	0,071	0,019	3,18	<0,01	0,030	3,12	4,66
	0,062	0,052	3,44	<0,01	0,029	9,04	9,56
	0,078	<0,01	5,44	<0,01	<0,01	3,16	6,12
	0,011	<0,01	0,931	<0,01	0,011	1,61	1,9

\*Les niveaux de résidus de chacun des composés contenant la partie asulame ont été rapportés en équivalent asulame et additionnés. Dans une approche pire cas, les résidus non quantifiés ont été considérés à la limite de quantification des méthodes d'analyse utilisées.

La dose de référence aiguë (ARfD) et la dose journalière acceptable (DJA<sup>11</sup>) retenues au niveau européen pour l'asulame sont respectivement de 1 et 0,36 mg/kg p.c.<sup>12</sup>/j.

Pour atteindre l'ARfD, il faudrait que la ration d'épinards ingérée par les forts consommateurs (22,6 :g/kg p.c) contienne 44,2 mg d'asulame total. Le plus haut niveau de résidu en asulame total mesuré dans les essais est de 9,56 mg/kg. L'exposition aiguë du consommateur liée à l'usage envisagé est donc d'environ 22 % de l'ARfD, sans tenir compte des transformations domestiques (cuisson) ou industrielles qui diminueraient les concentrations en asulame.

Avec le même type de raisonnement, l'exposition chronique du consommateur liée à l'usage envisagé représente 1 % de la DJA.

En se fondant sur les critères d'acceptabilité du risque définis dans le règlement (UE) n°546/2011<sup>13</sup> ainsi que sur les données communiquées à l'Agence et évaluées dans le cadre de cette demande, l'Agence nationale de sécurité sanitaire de l'alimentation, de l'environnement et du travail estime que l'utilisation de l'asulame, suivant strictement les modalités d'application envisagées, n'entraînera pas la présence dans les épinards de résidus pouvant entraîner un risque inacceptable à court ou à long terme pour le consommateur.

Enfin, il convient de noter que l'asulame bénéficie déjà d'une dérogation d'utilisation sur épinard en Belgique jusqu'en juin 2014 ( <http://www.fytoweb.fgov.be/FR/Pers/20140114%20asulame.htm>), en application de l'article 53 du Règlement (CE) n° 1107/2009.

**Marc MORTUREUX**

## MOTS-CLES

Produits phytopharmaceutiques, épinard, asulame

<sup>11</sup> La dose journalière admissible (DJA) d'un produit chimique est une estimation de la quantité de substance active présente dans les aliments ou l'eau de boisson qui peut être ingérée tous les jours pendant la vie entière, sans risque appréciable pour la santé du consommateur, compte tenu de tous les facteurs connus au moment de l'évaluation. Elle est exprimée en milligrammes de substance chimique par kilogramme de poids corporel (OMS, 1997).

<sup>12</sup> p.c. : poids corporel

<sup>13</sup> Règlement (UE) N o 546/2011 de la commission du 10 juin 2011 portant application du règlement (CE) n o 1107/2009 du Parlement européen et du Conseil en ce qui concerne les principes uniformes d'évaluation et d'autorisation des produits phytopharmaceutiques