

Aangetekend verstuurd
Ook per e-mail: post@ctgb.nl

**Aan het CTGB
Postbus 8030
6710 AA Ede**

Assen, 08 mei 2024

Betreft: Verzoek intrekking bestrijdingsmiddelen op basis van difenoconazool

Geacht College,

Hierbij verzoeken wij u te besluiten om de 26 (gewasbeschermings)middelen die u hebt toegelaten met als werkzame stof difenoconazool¹ in te trekken. Wij hebben vastgesteld dat aan Art. 29.e van Verordening 1107/2009 niet wordt voldaan waardoor intrekking op grond van art. 44, derde lid van die Verordening geboden is.

Wij stellen vast dat,

- De middelen met difenoconazool een **hormoonverstorende werking en effect hebben** en er dus alleen sprake mag zijn van verwaarloosbare blootstelling² zoals toepassing in een gesloten systeem. Daar is bij deze 26 middelen geen sprake van en dus kunnen de huidige toelatingen niet in stand blijven. Ons oordeel over de hormoonverstorende werking en effecten leiden we af uit de door onafhankelijke wetenschappers gepubliceerde studies die we in Bijlage 1 hebben samengevat.
Difenoconazool verandert op diverse niveaus het hormoonstelsel en geeft risico op zeer schadelijke gezondheidseffecten van organismen waaronder de mens. Zoals in de recente arresten van het Europese Hof van 25 april 2024³ nog eens duidelijk is gemaakt, dient het Ctgb bij haar besluiten de meest recente technische en wetenschappelijke kennis te betrekken. De onafhankelijke literatuur dient daar een voorname plaats in te krijgen. De onafhankelijke literatuur genereert onderzoek, dat in tegenstelling tot de studies van de industrie, geen last heeft van belangenconflicten, en dus het hoogste niveau van betrouwbaarheid dient te worden gegeven. De studies in Bijlage 1 tonen een hormoonverstorende werking (aromatase remming, diverse hormoonniveaus veranderd, genregulatie veranderd). Eveneens is er sprake van een groot (en divers) aantal schadelijke effecten (op de ontwikkeling, op de voortplanting, zelfs tot in de volgende generaties, op sperma, op het zenuwstelsel). En is er sprake van een plausibel verband tussen die twee, de typische niet lineaire dosis-effect relaties die de effecten bij lage dosis verklaren, de verandering bij de sexhormonen en de seksuele schade aan sperma en testis, de veranderde schildklierhormonen en verandering in de ontwikkeling van zenuwcellen, etc.). Tegelijk zijn veel van dit soort studies gedaan met een realistische dosis van blootstelling.

¹ Van 'Alternet' tot en met "Dagonis SC", zie: <https://toelatingen.ctgb.nl/nl/authorisations>

² Verordening 1107/2009, Annex II, 3.6.5

³ Prejudiciële vragen inzake In zaak C-308/22, C-309/22 en C-310/22.

- De middelen met difenoconazool een **metaboliet** veroorzaken, **1,2,4-T die geclassificeerd is als R1B⁴**, een classificatie die volgens Verordening 1107/2009⁵ een dusdanige schadelijke en onherroepelijke werking heeft dat alleen verwaarloosbare blootstelling (zoals toepassing in een gesloten systeem) mag plaatsvinden. In de praktijk komt dit neer op een verbod van de toepassing want gesloten systemen bestaan niet in de landbouw. Nu zult u misschien van oordeel zijn dat Annex II van de Verordening alleen gaat over de actieve stof en niet over de metaboliet. Wij menen dat deze vlieger niet opgaat. Als de mens of een dier wordt blootgesteld aan de uiterst schadelijke en onomkeerbare effecten van een R1B-chemische stof, maakt het niet uit of het de werkzame stof is of haar metaboliet. Beide zijn enorm schadelijk en er is geen enkele wetenschappelijke grond om hier verschil in te maken. In Art. 1.3 zegt de Verordening juist dat haar doel is om een goed niveau van bescherming voor mens dier en milieu te verzekeren en dus kan er geen uitzondering gemaakt worden voor zo'n metaboliet. Met het bespuiten van velden wordt de werkzame stof plus de metaboliet verspreid in het milieu en dat leidt tot blootstelling van onder meer dieren en omwonenden. Ook om deze reden moeten de 26 middelen worden ingetrokken.
- De middelen met difenoconazool een **vormen een risico voor resistentie**. Het stelselmatig gebruik in de landbouw leidt tot schimmelstammen die resistent zijn tegen difenoconazool^{6,7}. En die verspreiden zich steeds verder. U bent goed bekend met de Nederlandse discussie over de verspreiding van sporen van resistente stammen, bijvoorbeeld uit afvalhopen van de bollenteelt. Helaas is ook de menselijke geneeskunde afhankelijk van deze fungiciden. Bij kwetsbare patiënten is dit het laatste redmiddel, maar als de patiënt is besmet met de resistente stam kan het fataal aflopen. Opnieuw een dringende reden om het landbouwkundig gebruik van difenoconazool-middelen te staken. En inderdaad, dat is ook het standpunt van het ministerie van Landbouw. Zij stemde immers in de Europese ScoPAFF tegen de verlenging van deze stof⁸, al in 2020. Wij vertrouwen erop dat u deze lijn volgt en tot intrekking van de 26 middelen overgaat.
- Er zijn nog meer effecten die bij een beoordeling op basis van de meest recente inzichten ontbreken. We noemen het gebrek aan toetsing op cumulatieve en synergistische effecten. Dat gaat over diverse niveaus; enerzijds de cumulatie van difenoconazool en andere coformulanten in de 26 middelen zelf. Verder de cumulatie van difenoconazool en andere conazolen in voedsel, maar ook de cumulatie voor omwonenden (voeding, spuitdrift, stof, lucht, etc.). We zullen hier echter verder niet op ingaan aangezien de 3 bovenstaande feiten elk voor zich al voldoende reden zijn voor intrekking.

Wij zien uit naar uw besluit,

Met vriendelijke groet,



M. Mantingh,

Pesticide Action Network Netherlands

⁴ RAC, Substance Evaluation Conclusion document EC No 206-022-9, 2021.

⁵ Verordening 1107/2009, Annex II, 3.6.4.

⁶ Snelders E. et al. (2012) Triazole Fungicides Can Induce Cross-Resistance to Medical Triazoles in *Aspergillus fumigatus*. PLoS ONE 7(3): e31801.

⁷ Buil JB. et al., (2019) The fading boundaries between patient and environmental routes of triazole resistance selection in *Aspergillus fumigatus*. PLoS Pathog 15(8): e1007858

⁸ ScoPAFF, september 2020.

Bijlage 1.

Literatuur over de hormoonverstorende werking en hormoonverstorende schadelijke effecten van difenoconazole.

Studies from independent scientists consistently demonstrate the endocrine activity of difenoconazole and its related negative endocrine health effects. Much research is done in (zebra)fish, few in mammals, both with great relevance for other animals such as humans.

Difenoconazole,

- **inhibits aromatase** (reproductive damage in fish, androgen down, oestrogen and aromatase up⁹), (inhibit brain and ovarian aromatase activities¹⁰);
- **changes the endocrine system** (mRNA levels of brain follicle-stimulating hormone, ovarian cytochrome P450 aromatase (CYP19s), hepatic oestrogen receptors and vitellogenin¹¹), (interference growth endocrine system, sex-specifically altered expression¹²), (lowering cholesterol¹³);
- **causes oestrogen disruption** (estrogenic endocrine-disruption effects, transferred to offspring¹⁴);
- shows **effects on thyroid hormones** (changed thyroid hormone levels and gene transcription¹⁵), (T3 increased, and T4 decreased¹⁶);
- effects on **gene regulation hormones**, (the luteinizing hormone (LH β) and the follicle-stimulating hormone (FSH β) genes in the brain all exhibited a significant down-regulation, the expression of androgen receptors (α and β) was decreased and that of oestrogen receptor β and cytochrome P450 aromatase (CYP19B) was increased in the testes¹⁷), (increased expression of genes relevant to the GH/insulin-like growth factor axis (GH/IGF) axis in the brain, liver, and testis as well as increased GH levels¹⁸);

Studies that demonstrate harmful effects of difenoconazole on organisms,

- on **development**, (egg number produced, the hatch ability and the swim-up success in the F1 generation all showed a U-shaped dose response; decrease of fecundity and viability of the next

⁹ Dong X et al. Exposure to difenoconazole inhibits reproductive ability in male marine medaka (*Oryzias melastigma*). *J Environ Sci (China)*. 2018 Jan;63:126-132.

¹⁰ Hinfray N et al. Inhibition of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) P450 aromatase activities in brain and ovarian microsomes by various environmental substances. *Comp Biochem Physiol C Toxicol Pharmacol*. 2006 Nov;144(3):252-62.

¹¹ Dong X et al. Reproductive effects of life-cycle exposure to difenoconazole on female marine medaka (*Oryzias melastigma*). *Ecotoxicology*. 2017 Aug;26(6):772-781.

¹² Teng M et al. Sex-specific effects of difenoconazole on the growth hormone endocrine axis in adult zebrafish (*Danio rerio*). *Ecotoxicol Environ Saf*. 2017 Oct;144:402-408.

¹³ Mu X et al. Sex specific response in cholesterol level in zebrafish (*Danio rerio*) after long-term exposure of difenoconazole, *Environmental Pollution*, Volume 197, February 2015, Pages 278-286

¹⁴ Teng M et al. Effects of the bioconcentration and parental transfer of environmentally relevant concentrations of difenoconazole on endocrine disruption in zebrafish (*Danio rerio*). *Environ Pollut*. 2018 Feb;233:208-217.

¹⁵ Liang X et al. Exposure to difenoconazole causes changes of thyroid hormone and gene expression levels in zebrafish larvae. *Environ Toxicol Pharmacol*. 2015 Nov;40(3):983-7.

¹⁶ Chen L, et al. Environmental Hormone Effects and Bioaccumulation of Propiconazole and Difenoconazole in *Procypris merus*. *Bull Environ Contam Toxicol*. 2022 Nov;109(5):823-830.

¹⁷ Dong X et al. Exposure to difenoconazole inhibits reproductive ability in male marine medaka (*Oryzias melastigma*). *J Environ Sci (China)*. 2018 Jan;63:126-132.

¹⁸ Teng M et al. Sex-specific effects of difenoconazole on the growth hormone endocrine axis in adult zebrafish (*Danio rerio*). *Ecotoxicol Environ Saf*. 2017 Oct;144:402-408.

generation realistic environmental concentration¹⁹); (impact the spermatogenesis via the brain–pituitary–gonad pathway; less viability F1 generation²⁰), (hatching inhibition, abnormal spontaneous movement, slow heart rate, growth regression and morphological deformities²¹;

- on **reproduction** (reduced sperm counts; decrease of the fertilization success, the hatch ability and the swim-up success in the F1 generation²²), (reproductive toxicity and transgenerational effects, realistic levels of exposure²³), (estrogenic endocrine-disruption effects via altering homeostasis of sex steroid hormones in the HPGL axis and the adverse effects can be transferred to the offspring²⁴); (endocrine-disrupting effect on zebrafish HPG axis, reduced fertility²⁵), (Sex Hormone-Dependent Reproductive Development²⁶);
- on **spermatogenesis** (reduced number of sperm²⁷);
- on dysregulation and **testicular injury in mice**²⁸;
- on **neurotoxicity and developmental neurotoxicity** (malformations, abnormal locomotor activity²⁹), (oxidative stress, neuronal necrosis³⁰), (DNA damage in human neuroblastoma³¹);
- effects on **offspring**, (adverse effects transferred to offspring, realistic levels of exposure³²), (development embryo, teratogenic effects, gene upregulation³³), (reproductive disease in the

¹⁹ Dong X et al. Reproductive effects of life-cycle exposure to difenoconazole on female marine medaka (*Oryzias melastigma*). *Ecotoxicology*. 2017 Aug;26(6):772-781.

²⁰ Dong X et al. Exposure to difenoconazole inhibits reproductive ability in male marine medaka (*Oryzias melastigma*). *J Environ Sci (China)*. 2018 Jan;63:126-132.

²¹ Mu X et al. Evaluation of acute and developmental effects of difenoconazole via multiple stage zebrafish assays, *Environmental Pollution*, Volume 175, April 2013, Pages 147-157.

²² Dong X et al. Exposure to difenoconazole inhibits reproductive ability in male marine medaka (*Oryzias melastigma*). *J Environ Sci (China)*. 2018 Jan;63:126-132

²³ Dong X et al. Reproductive effects of life-cycle exposure to difenoconazole on female marine medaka (*Oryzias melastigma*). *Ecotoxicology*. 2017 Aug;26(6):772-781

²⁴ Teng M et al. Effects of the bioconcentration and parental transfer of environmentally relevant concentrations of difenoconazole on endocrine disruption in zebrafish (*Danio rerio*). *Environ Pollut*. 2018 Feb;233:208-217.

²⁵ Chen X et al. Exposure to difenoconazole induces reproductive toxicity in zebrafish by interfering with gamete maturation and reproductive behaviour. *Sci Total Environ*. 2022 Sep 10;838(Pt 1):155610.

²⁶ Draskau MK et al. (2022), Azole Fungicides and Their Endocrine Disrupting Properties: Perspectives on Sex Hormone-Dependent Reproductive Development. *Front. Toxicology* 4:883254.

²⁷ Dong X et al. Exposure to difenoconazole inhibits reproductive ability in male marine medaka (*Oryzias melastigma*). *J Environ Sci (China)*. 2018 Jan;63:126-132.

²⁸ Zheng X et al. Difenoconazole Exposure Induces Retinoic Acid Signalling Dysregulation and Testicular Injury in Mice Testes. *Toxics*. 2023 Mar 30;11(4):328.

²⁹ Yang et al. Developmental Neurotoxicity of Difenoconazole in Zebrafish Embryos. *Toxics*. 2023 Apr 8;11(4):353.

³⁰ Liu et al. Difenoconazole disrupts the blood-brain barrier and results in neurotoxicity in carp by inhibiting the Nrf2 pathway mediated ROS accumulation. *Ecotoxicol Environ Saf*. 2022 Oct 1;244:114081

³¹ Wang X et al. Difenoconazole induces oxidative DNA damage and mitochondria mediated apoptosis in SH-SY5Y cells. *Chemosphere*. 2021 Nov;283:131160

³² Teng M et al. Effects of the bioconcentration and parental transfer of environmentally relevant concentrations of difenoconazole on endocrine disruption in zebrafish (*Danio rerio*). *Environ Pollut*. 2018 Feb;233:208-217.

³³ Mu et al. The developmental effect of difenoconazole on zebrafish embryos: A mechanism research. *Environ Pollut*. 2016 May; 212:18-26.

offspring³⁴), (embryotoxicity in rat embryo culture, difenoconazole most potent³⁵), (steroid biosynthesis mediated malformations in F1 of parental exposure to difenoconazole³⁶).

Plausible connections between endocrine activity and harmful effects do exist. For instance, the changes in sex hormones and the harmful effects seen in reproduction and development, the changes in thyroid hormones and neural maturation, the decrease in mRNA and the reduction of sperm and decrease of fertilization, the U-shapes dose response that give an explanation for the effects at low dose. While the exposure in most cases is done in these studies at realistic concentrations. In the face of such overwhelming evidence and a pattern of being an endocrine disruptor, you should ban difenoconazole immediately.

³⁴ Draskau MK et al. (2022), Azole Fungicides and Their Endocrine Disrupting Properties: Perspectives on Sex Hormone-Dependent Reproductive Development. *Front. Toxicology* 4:883254.

³⁵ Dimopoulou N. et al. Embryotoxic and pharmacologic potency ranking of six azoles in the rat whole embryo culture by morphological and transcriptomic analysis, *Toxicology and Applied Pharmacology* 322 (2017) 15–26.

³⁶ Chang Y. et al. Developmental defects and potential mechanisms in F1 generation of parents exposed to difenoconazole at different life stages of zebrafish (*Danio rerio*), *Science of The Total Environment* Volume 883, 20 July 2023, 163529.