



Note réglementaire

REG2006-02

***Bacillus sphaericus* souche 2362**

En vertu du *Règlement sur les produits antiparasitaires*, on a accordé l'homologation temporaire au biopesticide microbien *Bacillus sphaericus* de souche 2362 et à ses préparations commerciales VectoLex WSP, VectoLex CG et VectoLex WDG contenant le sérotype 5a5b de la souche 2362 de *Bacillus sphaericus*, destinées à être utilisées pour la lutte contre les larves de moustiques dans divers habitats aquatiques.

La présente note réglementaire contient un sommaire des données examinées et un exposé des raisons qui justifient la décision réglementaire concernant ces produits.

(also available in English)

Le 7 avril 2006

Ce document est publié par la Division des nouvelles stratégies et des affaires réglementaires, Agence de réglementation de la lutte antiparasitaire. Pour de plus amples renseignements, veuillez communiquer avec :

Publications
Agence de réglementation de la lutte antiparasitaire
Santé Canada
2720, promenade Riverside
I.A. 6605C
Ottawa (Ontario)
K1A 0K9

Internet : pmra_publications@hc-sc.gc.ca
www.pmra-arla.gc.ca
Service de renseignements :
1 800 267-6315 ou (613) 736-3799
Télécopieur : (613) 736-3758



ISBN : 0-662-71419-9 (0-662-71420-2)

Numéro de catalogue : H113-7/2006-2F (H113-7/2006-2F-PDF)

© Sa Majesté la Reine du chef du Canada, représentée par le ministre des Travaux publics et Services gouvernementaux Canada 2006

Tous droits réservés. Il est interdit de reproduire ou de transmettre l'information (ou le contenu de la publication ou produit), sous quelque forme ou par quelque moyen que ce soit, enregistrement sur support magnétique, reproduction électronique, mécanique, ou par photocopie, ou autre, ou de l'emmagasiner dans un système de recouvrement, sans l'autorisation écrite préalable du ministre des Travaux publics et Services gouvernementaux Canada, Ottawa, Ontario K1A 0S5.

Avant-propos

L'Agence de réglementation de la lutte antiparasitaire (ARLA) de Santé Canada a accordé l'homologation temporaire à la matière active (m.a.) *Bacillus sphaericus* souche 2362 (Bsph) comme biopesticide microbien et à ses préparations commerciales (PC) VectoLex WSP, VectoLex CG et VectoLex WDG destinées à être utilisées pour la lutte contre les larves de moustiques dans divers habitats aquatiques.

En vertu du *Règlement sur les produits antiparasitaires* (RPA), l'ARLA a effectué une évaluation des renseignements disponibles sur la m.a. et ses PC et les a jugés suffisants pour permettre de déterminer l'innocuité, les avantages et la valeur. Elle a conclu que l'utilisation du Bsph de ses PC pour lutter contre les larves de moustiques dans divers milieux aquatiques présente des avantages et une valeur conformes au RPA, et qu'elle ne comporte pas de risque inacceptable. Pour ces raisons, on a accordé l'homologation temporaire au biopesticide microbien *Bacillus sphaericus* souche 2362 et à ses préparations commerciales VectoLex WSP, VectoLex CG et VectoLex WDG, à la condition que des données de confirmation soient présentées.

On s'intéresse de plus en plus à l'utilisation d'agents antiparasitaires microbiens comme solution de rechange aux pesticides classiques parce qu'ils semblent présenter un risque moins élevé pour la santé humaine et l'environnement. Le VectoLex WSP, le VectoLex CG et le VectoLex WDG constituent des substituts biologiques possibles aux pesticides chimiques.

La société Valent BioSciences Corporation procédera aux études de confirmation requises à titre de condition des homologations temporaires. À la lumière des résultats obtenus, l'ARLA publiera un projet de décision réglementaire et sollicitera les commentaires des intéressés avant d'arrêter sa décision réglementaire finale.

Table des matières

1.0	La matière active, ses propriétés et ses utilisations	1
1.1	Description	1
1.2	Propriétés physicochimiques	2
1.3	Détails relatifs aux utilisations et renseignements complémentaires	3
2.0	Méthodes d'analyse	5
2.1	Méthodes d'analyse du micro-organisme tel que fabriqué	5
2.1.1	Méthodes d'identification du micro-organisme	5
2.1.2	Méthodes de détermination de la pureté des souches	6
2.1.3	Méthodes de détermination du contenu en micro-organismes dans le produit obtenu en vue de fabriquer la formulation	6
2.1.4	Méthodes de détermination des impuretés pertinentes dans le produit fabriqué	7
2.1.5	Méthodes pour démontrer l'absence de bactéries réputées pathogènes pour les humains ou les mammifères	8
2.1.6	Méthodes pour démontrer la stabilité à l'entreposage et la durée de vie du micro-organisme	9
3.0	Effets sur la santé humaine et animale	10
3.1	Résumé d'ensemble sur la toxicité et l'infectiosité	10
3.2	Signalement de cas d'hypersensibilité	11
3.3	Effets sur la santé humaine ou animale découlant de l'exposition à la matière active ou aux impuretés qu'elle contient	11
3.3.1	Évaluation de l'exposition professionnelle et occasionnelle	11
4.0	Résidus	13
4.1	Sommaire des données sur les résidus	13
5.0	Comportement et devenir dans l'environnement	13
5.1	Concentrations prévues dans l'environnement	14
6.0	Effets sur les espèces non ciblées	15
6.1	Effets sur les organismes terrestres	15
6.2	Effets sur les organismes aquatiques	16
7.0	Efficacité	17
7.1	Efficacité du VectoLex WSP, VectoLex CG et VectoLex WDG contre les organismes visés	17
7.1.1	Utilisations prévues	17
7.1.2	Mode d'action	19
7.1.3	Catégories d'utilisation	19
7.1.4	Efficacité contre les organismes nuisibles	20

7.1.5	Volume total de pulvérisation	26
7.2	Toxicité pour les plantes ou les produits d'origine végétale ciblés	26
7.3	Incidences sur les cultures subséquentes, les cultures adjacentes ainsi que sur les végétaux ou les produits d'origine végétale traités utilisés à des fins de multiplication	26
7.3.1	Incidences sur les cultures adjacentes	26
7.3.2	Recommandations relatives au mélange en cuve	26
7.4	Aspects économiques	26
7.5	Pérennité	27
7.5.1	Recensement des solutions de rechange	27
7.5.2	Compatibilité avec les pratiques de lutte actuelles, y compris la lutte intégrée	31
7.5.3	Contribution à la réduction des risques	31
7.5.4	Renseignements sur la fréquence observée ou possible d'acquisition de résistance	32
7.6	Conclusions	32
7.6.1	Résumé	33
8.0	Considérations relatives à la Politique de gestion des substances toxiques	37
9.0	Décision réglementaire	37
	Liste des abréviations	38
Annexe I	Toxicologie	39
Tableau 1	Sommaire des études de toxicité et d'infectiosité pour la VectoLex Technical Powder et les produits VectoLex WDG, VectoLex CG et VectoLex WSP	39
Annexe II	Évaluation environnementale	47
Tableau 1	Résumé des effets sur les organismes terrestres	47
Tableau 2	Résumé des effets sur les organismes aquatiques	49
	Références	53

1.0 La matière active, ses propriétés et ses utilisations

1.1 Description

Description de la matière active de qualité technique

Micro-organisme actif	<i>Bacillus sphaericus</i> souche 2362
Utilité	Larvicide anti-moustique
Nom scientifique	<i>Bacillus sphaericus</i>
Ordre taxonomique	
Règne	Eubactéries
Embranchement	Firmicutes
Classe	Bacilli
Ordre	Bacillales
Famille	Bacillacées
Genre	<i>Bacillus</i>
Espèce	<i>sphaericus</i>
Sérotype	5a5b
Souche	2362
Renseignements relatifs à un brevet canadien	Aucun
Pureté nominale de la m.a.	670 unités toxiques internationales de Bsph par milligramme (UTI-Bs/mg)
Nature des impuretés d'importance toxicologique, environnementale ou autre	La matière active de qualité technique (MAQT) de la VectoLex Technical Powder ne contient aucune impureté ou microcontaminant figurant sur la liste des substances de la voie 1 de la Politique de gestion des substances toxiques (PGST). Le produit doit être conforme aux normes de rejet de contaminants microbiologiques; Bsph ne produit aucune toxine réputée active contre les mammifères.

1.2 Propriétés physicochimiques

Produit de qualité technique : VectoLex Technical Powder

Propriété	Résultat
Couleur	Brun clair (brun à brun grisâtre)
Odeur	Odeur de moisi
État physique	Poudre
Densité, densité apparente, masse volumique	0,52 gramme par millilitre (g/ml)
Viscosité	Sans objet
Pouvoir oxydo-réducteur	Non signalé (aucun n'est prévu)
Mouillabilité	Non signalée
pH (suspension aqueuse à 10 %)	6,3
Humidité	Non signalée

Préparations commerciales : VectoLex WDG, VectoLex CG et VectoLex WSP

Propriété	Résultat		
	VectoLex WDG	VectoLex CG	VectoLex WSP ^a
Couleur	Brun	Brun clair à brun	Brun clair à brun
Odeur	Odeur de moisi, acide	Odeur de grain caractéristique	Odeur de grain caractéristique
État physique	Granulés fins	Granulés	Granulés
Genre de formulation	Granulés fins dispersables dans l'eau	Granulés	Granulés
Garantie	650 UTI-Bs/mg	50 UTI-Bs/mg	50 UTI-Bs/mg
Produits de formulation	Ne contiennent aucun produit de formulation figurant sur la liste 1 de la United States Environmental Protection Agency (EPA) ni aucun produit connu comme étant une substance de la voie 1 de la PGST.		

Propriété	Résultat		
	VectoLex WDG	VectoLex CG	VectoLex WSP ^a
Description du contenant	Contenants en plastique de 5 kilogrammes (kg) ou sacs plus grands	Sacs de 18 kg	Sachets hydrosolubles (40/paquet)
Pouvoir oxydo-réducteur	Non signalé (aucun n'est prévu)	Non signalé (aucun n'est prévu)	Non signalé (aucun n'est prévu)
Mouillabilité	3 secondes	Non signalée	Non signalée
Densité, densité apparente, masse volumique	0,36 g/ml	0,52 g/ml	0,52 g/ml
pH (suspension aqueuse à 10 %)	5,01	6,3	6,3
Humidité	Non signalée	Non signalée	Non signalée
Stabilité à l'entreposage	Les études suggèrent que ces produits sont stables pendant 12 mois lorsqu'ils sont entreposés à 25 degrés Celsius (°C).		

^a Le VectoLex WSP présente le même type de formulation que le VectoLex CG, mais il est conditionné en sachets hydrosolubles.

1.3 Détails relatifs aux utilisations et renseignements complémentaires

Le VectoLex WDG, le VectoLex CG et le VectoLex WSP sont des préparations commerciales contenant la matière active *Bacillus sphaericus* souche 2362.

Le VectoLex WDG (650 UTI-Bs/mg) est une préparation de granulés à disperser dans l'eau qui se range sous la catégorie d'utilisation (CU) n° 2, sites aquatiques à usage non alimentaire, en tant que larvicide biologique pour la lutte contre les larves de moustiques dans divers habitats aquatiques tels que marais d'eau douce et d'eau salée, plaines inondables, champs et pâturages inondés, terrains humides, étangs, bassins de retenue et de filtration d'eaux pluviales, effluents d'eaux usées, bassins et étangs de stabilisation, bassins de flottage, réservoirs de retenue d'eaux usées, tranchées d'épuration et tranchées de drainage, y compris égouts pluviaux et fossés d'irrigation à ciel ouvert. On propose de l'épandre sous forme de suspension aqueuse, à l'aide d'équipements de pulvérisation terrestre ou aérienne. Les sites aquatiques visés doivent être traités après vérification de la présence de larves de moustiques.

Le VectoLex CG (50 UTI-Bs/mg) se présente sous forme de granulés à base de rafle de maïs qui se classe dans la CU n° 2, sites aquatiques à usage non alimentaire, comme larvicide biologique pour lutter contre les larves de moustiques dans divers habitats aquatiques, notamment marais d'eau douce et d'eau salée, plaines inondables, champs et pâturages inondés, terrains humides, étangs, bassins de retenue et de filtration d'eaux pluviales, effluents d'eaux usées, bassins et étangs de stabilisation, bassins de flottage, réservoirs de retenue d'eaux usées, tranchées d'épuration et tranchées de drainage, égouts pluviaux, fossés d'irrigation à ciel ouvert et pneus usés. On suggère de l'appliquer tel quel, sans dilution ni mélange, à la surface de l'eau, au moyen de méthodes d'épandage terrestre ou aérien. Les sites aquatiques ciblés doivent être traités après vérification de la présence de larves de moustiques.

Le VectoLex WSP (50 UTI-Bs/mg) est une préparation de granulés en sachets hydrosolubles (10 g/sachet) qui entre dans la CU n° 2, sites aquatiques à usage non alimentaire, dont on propose l'utilisation comme larvicide biologique pour la lutte contre les larves de moustiques dans les puisards de rue. On suggère de l'utiliser tel quel, sans dilution. Les sites visés doivent être traités après vérification de la présence de larves de moustiques.

Le BspH a été isolé en 1981, au Nigéria, par J. Weiser (Institut d'entomologie, Académie des sciences de la République tchèque) à partir de simuliés adultes (*Simulium damnosum*). Il est conservé au Centre collaborateur de l'Organisation mondiale de la santé, à l'Institut Pasteur, qui le met à la disposition des chercheurs intéressés. Les Laboratoires Abbott ont obtenu la souche de A.A. Yousten (Virginia Polytechnical Institute, Blacksburg, Virginie) en 1982. La souche 2362 de BspH a été identifiée par analyse des acides gras cellulaires; l'analyse de l'antigène flagellaire a permis de déterminer qu'elle appartenait au sérotype 5a5b. Cette souche se caractérise par sa résistance aux antibiotiques et par la morphologie des inclusions cristallines (protéines de toxines) produites pendant la sporulation. BspH est une bactérie aérobie productrice d'endospores qui appartient à la famille des Bacillacées. On trouve les souches insecticides et non entomopathogènes de cette bactérie dans l'eau, le sol et les insectes partout dans le monde.

L'activité insecticide de BspH est attribuable à deux types distincts de toxines : la toxine insecticide anti-moustique (Mtx) et la toxine binaire (Btx). La Btx du BspH est responsable de l'activité toxique primaire des souches insecticides commerciales. Elle se compose de deux protéines, appelées P51 et P42 d'après leur poids moléculaire, présentes dans les spores sous forme d'inclusions cristallines. Sa toxicité pour les larves de moustiques est induite par ingestion, La matrice cristalline de la protéine se dissout dans l'estomac antérieur. Les protéinases et le pH élevé de l'intestin moyen convertissent lentement la P42 en une forme active de 39 kilodaltons (kDa), et coupent rapidement la P51 en une forme active de 43 kDa. Il semble que la P42 soit la composante active (toxique), et que la P51 influe sur la spécificité de liaison. Chez les espèces sensibles, les altérations de l'intestin moyen peuvent s'observer 15 minutes à peine après l'ingestion, notamment dans l'estomac postérieur et dans le cæcum gastrique. Chez *Culex pipiens*, on observe au microscope électronique une vacuolisation des cellules de l'intestin moyen;

chez *Anopheles stephensi*, on constate des zones de faible densité électronique. Par ailleurs, toutes les espèces sensibles présentent un gonflement mitochondrial qui s'accompagne parfois d'une inhibition de l'activité mitochondriale ou de la choline acétyltransférase. On a également signalé des cas de détérioration tardive des tissus neuraux et des muscles squelettiques.

2.0 Méthodes d'analyse

2.1 Méthodes d'analyse du micro-organisme tel que fabriqué

2.1.1 Méthodes d'identification du micro-organisme

Le BspH est une bactérie aérobie produisant des endospores, qui appartient à la famille des Bacillacées. La cellule végétative est un bacille gram positif, et l'endospore ronde, terminale et claire en microscopie à contraste de phase, provoque une distension nette de la paroi cellulaire. On a souvent recours à la morphologie des spores pour identifier cette bactérie au microscope, même si huit autres espèces de *Bacillus* produisent des spores semblables. Les caractéristiques phénotypiques qui définissent cette espèce sont rares; elles se limitent à des généralités comme la présence de spores sphériques, ou à des aspects négatifs tels que l'inaptitude à croître en milieu anaérobie ou à métaboliser les sucres en guise de sources de carbone. Toutefois, les études d'hybridation de l'ADN, de sérologie flagellaire et d'identification de phages (lysotypie) permettent de distinguer les souches insecticides des souches saprophytes. L'étude de l'homologie des séquences de l'ADN a permis de distinguer cinq groupes de souches. Les souches pathogènes pour les moustiques se concentrent dans le groupe d'homologie IIA; elles se partagent en deux sous-groupes selon leur degré de toxicité. Les souches hautement toxiques, y compris l'agent microbien de lutte antiparasitaire (AMLA), produisent une inclusion parasporale, ou une protéine de toxine cristalline, semblable à celle produite par *Bacillus thuringiensis*. Chez les souches de toxicité moindre, il semble que la toxicité soit due à une Mtx produite pendant la croissance végétative. Les souches de BspH sont également classées selon leur sérotype. Les souches du groupe IIA appartenant aux sérotypes H25, H5a et 5b sont les plus toxiques. L'AMLA appartient au sérotype H-5a5b. La technique d'identification de phages permet de distinguer sept lysotypes dans le groupe d'homologie IIA. Les souches les plus toxiques, y compris l'AMLA, se concentrent dans le lysotype 3. Enfin, sous électrophorèse sur gel de polyacrylamide en présence de sulfate de sodium dodécylsulfate, les caractéristiques de la migration de l'aminopeptidase varient selon la souche et peuvent servir, en conjonction avec la phagotypie et la sérotypie, à l'identification des souches. Outre les méthodes décrites parmi les références présentées, il existe d'autres techniques de différenciation des souches détaillées ailleurs dans la documentation scientifique, notamment le séquençage de l'ADN ribosomique 16S, l'analyse des acides gras cellulaires pour distinguer les isolats recueillis sur le terrain des isolats cliniques de souches insecticides commerciales, et les techniques d'amplification aléatoire d'ADN polymorphe.

2.1.2 Méthodes de détermination de la pureté des souches

On conserve sous vide, dans des ampoules de verre scellées, des « banques de tissus » lyophilisés préparés à partir de la culture originale. La quantité de matériel disponible est suffisante pour durer des centaines d'années. On prépare à partir d'une seule de ces ampoules une souche étalon. Après avoir fait le vide à l'intérieur de l'ampoule, on remet en suspension la culture lyophilisée dans un flacon de milieu liquide. Le flacon est incubé, transvasé dans des fioles contenant un milieu cryoprotecteur et entreposé à -80 °C. Les colorations de Gram sont effectuées sur le contenu de fioles sélectionnées, et les cellules sont mises en culture sur bouillon ou sur gélose pour contrôle de la pureté. La souche étalon est produite en quantités suffisantes pour durer de dix à vingt ans. On prépare de la même façon, à partir des souches étalon, une souche de travail en quantité suffisante pour durer de deux à cinq ans. Les tests de pureté des cultures sont effectués sur le reliquat de la fiole de la souche étalon dans le flacon de culture. L'inoculum de production subit donc seulement quatre passages avant de produire le biopesticide. À chaque passage, le nouveau lot est comparé à la souche de production en cours de traitement, et une partie des fioles sont dégelées aux fins de l'examen microscopique des cellules (coloration de Gram), de la mise en culture sur bouillon et du repiquage sur gélose pour contrôle de la pureté. Chaque nouveau lot de travail est testé dans une installation d'essai, puis dans une installation de production pour faire en sorte que les caractéristiques cinétiques de la fermentation et le rendement soient comparables à ceux du lot de production courant.

2.1.3 Méthodes de détermination du contenu en micro-organismes dans le produit obtenu en vue de fabriquer la formulation

Un bio-essai sur les diptères sert à déterminer la puissance de l'insecticide. Les données de l'effet quantique de la dose observé sur des larves de *Culex quinquefasciatus* sont analysées par régression des probits pondérés de la dose log-transformée, et exprimées en UTI-Bs/mg d'après l'étalon de référence de Bsph de la société Abbott (Code I.D. 15385, Lot : 86-958-BD). On prépare un nombre minimal de quatre réplicats par échantillon au cours de jours successifs. Trois préparations d'un étalon de référence sont testées chaque jour de l'essai. Ce dernier est réalisé dans des gobelets en papier de 100 ml contenant chacun 20 larves de *Culex quinquefasciatus* âgées de deux jours. Six doses sont testées pour chaque échantillon, à raison de trois gobelets par dose. La substance testée est mise en suspension dans l'eau. Son volume est calculé en fonction de la puissance prévue et du volume de l'étalon de référence utilisé. Dans certains cas, on ajoute 0,2 % de Tween 80 pour faciliter la remise en suspension. On prépare une dilution de 1:50 000 ou 1:100 000 de la substance à tester, suivie d'une nouvelle dilution par dix, puis de cinq dilutions supplémentaires de 55 % chacune dans les gobelets en papier. Les gobelets sont mis à incuber à 28 °C, avec une humidité relative de 50 % et une photopériode de 12 heures. Au bout de 42 à 45 heures, on détermine le nombre de larves vivantes et mortes dans chaque gobelet. Un logiciel d'analyse par la méthode des probits sert à calculer et à comparer la dose létale à 50 % (DL_{50}) de l'échantillon et de l'étalon, de même qu'à convertir ces données en puissance relative traduite en UTI-Bs/mg.

L'étalon de référence 86-958-BD est utilisé depuis la mise au point originale des produits VectoLex, mais on lui attribuait avant 1995 une puissance différente (3 000 UTI-Bs/mg) de celle qui lui est reconnue aujourd'hui (1 700 UTI-Bs/mg). La puissance de référence de 3 000 UTI-Bs/mg a servi aux bio-essais réalisés aux fins de l'homologation par l'EPA, en 1991. Toutefois, pour des raisons commerciales, les produits VectoLex n'ont pas été immédiatement mis sur le marché à la suite de leur homologation. Lorsque cette gamme de produits a été relancée en 1995, Abbott a comparé à nouveau l'étalon 86-958-BD aux étalons de l'Institut Pasteur, ce qui l'a conduit à attribuer la nouvelle valeur de puissance de 1 700 UTI-Bs/mg. Les valeurs de puissance calculées avant 1995 sont donc fondées sur la puissance de référence de 3 000 UTI-Bs/mg, tandis que celles calculées après cette date sont fondées sur celle de 1 700 UTI-Bs/mg. Pour cette raison, les mesures de la puissance obtenues dans le cadre d'études plus anciennes risquent de ne pas correspondre à celles actuellement garanties sur l'étiquette.

Les cinq lots de production utilisés pour déterminer la puissance des produits ont donné des résultats acceptables.

2.1.4 Méthodes de détermination des impuretés pertinentes dans le produit fabriqué

La VectoLex Technical Powder fait régulièrement l'objet de tests de détection de contamination microbienne, y compris de tests de numération microbienne aérobie totale, de comptage total des levures et des moisissures, et de tests de détection d'entérobactéries, de coliformes, d'*Escherichia coli*, de *Pseudomonas aeruginosa*, de *Clostridium perfringens*, de *Staphylococcus aureus* et des *Salmonella* spp. Les dénombrements aérobies totaux sont réalisés sur gélose tryptique de soja coulée en boîte de Pétri incubée entre 30 et 35 °C. On peut également procéder à la suspension d'écouvillons dans un bouillon Lethen (BD Diagnostics Systems) additionné de métaphosphate de sodium 1 %, dans un bouillon lactosé ou dans un milieu de culture Enterococcosel™ (BD Diagnostics Systems), suivies d'un repiquage en boîtes de Pétri. Les levures et les moisissures sont comptées sur gélose dextrosée de Sabouraud ou sur gélose dextrosée à la pomme de terre. Il est également possible de passer les échantillons dans un filtre de 0,45 micromètre (µm) qui est ensuite déposé sur un milieu coulé en boîte de Pétri.

Les entérobactéries sont isolées sur gélose de M-entérocoques; elles y forment des colonies roses à brun rougeâtre, et prennent, sous le microscope, l'aspect de chaînes de cellules gram positives. Les colonies présumées sont identifiées sur des galeries API® (bioMérieux) ou à l'aide du système VITEK® (bioMérieux) d'analyse biochimique.

Les coliformes et *Escherichia coli* sont détectés sur gélose à la bile au rouge violet coulée en boîte de Pétri avec surcouche de gélose. Les coliformes forment des colonies pourpres, gram négatives et oxydase positives. Si leur présence est détectée, on utilise des galeries API® ou l'analyse VITEK® pour en confirmer l'identité. Pour détecter *Pseudomonas aeruginosa*, on utilise des plaques de gélose de centrimide incubées entre 35 et 37 °C pendant 48 à 72 heures. Les colonies verdâtres ou bleuâtres sont comptées et leur identité est confirmée par coloration de Gram (négatif), par test d'oxydase ou à l'aide de galeries API®.

Clostridium perfringens est isolé sur plaques de gélose perfringens (Oxoid) et cultivé en anaérobiose pendant 18 à 24 heures entre 35 et 37 °C. L'apparition de grosses colonies noires indique une contamination par ce bacille. Les colonies présumées sont identifiées par ensemencement dans une gélose de motilité au nitrate (les bacilles sont non motiles; le développement d'une coloration rouge indique une production de nitrate), ou dans des tubes de gélatine lactosée (*C. perfringens* peut liquéfier la gélatine).

Staphylococcus aureus est détecté sur gélose Baird-Parker ou sur gélose de jaune d'œuf au tellurite. Le développement de colonies noires et luisantes entourées d'une zone claire laisse supposer la présence de ce bacille. La coloration de Gram et les tests de coagulase permettent d'en confirmer l'identité.

Pour détecter les espèces de *Salmonella*, les échantillons sont d'abord enrichis dans un bouillon de lactose puis cultivés dans un milieu sélectif ou dans un bouillon de sélénite-cystine ou de tétrathionate, puis repiqués sur plaques de gélose au vert brillant. Le développement de petites colonies roses ou blanches, parfois entourées d'une zone rouge, trahit la présence de *Salmonella*. On peut également utiliser une gélose de xylose-lysine-désoxycholate, sur laquelle le développement de colonies rouges avec ou sans centre noir signale la présence présumée de *Salmonella*, ou une gélose au sulfite de bismuth, sur laquelle les *Salmonella* forment des colonies noires ou vert foncé. On confirme l'identité de ces bactéries par ensemencement dans une gélose à trois sucres en pente et par analyse API®.

Le seuil admissible de contamination microbienne est fixé à moins de 1 000 organismes/g pour les entérocoques et les streptocoques, et à moins de 100 organismes/g pour les coliformes. Aucune contamination microbienne supérieure au seuil admissible n'a été observée dans les cinq lots de production de chacune des PC analysées.

2.1.5 Méthodes pour démontrer l'absence de bactéries réputées pathogènes pour les humains ou les mammifères

Outre les tests de détection de pathogènes microbiens décrits à la section 2.1.4, il faut effectuer un test sur des souris pour confirmer l'absence de *Bacillus anthracis* dans les suspensions des produits de chaque lot. On a soumis les protocoles détaillés de ces tests; ils sont identiques à ceux utilisés pour le contrôle de la qualité des pesticides à base de *Bacillus thuringiensis* homologués.

2.1.6 Méthodes pour démontrer la stabilité à l'entreposage et la durée de vie du micro-organisme

On a déterminé la puissance d'un lot unique (86-958-BD) de VectoLex Technical Powder après 12 et 24 mois d'entreposage à 25 °C. La puissance initiale du produit était de 3 000 UTI-Bs/mg; elle s'établissait à 2 172 UTI-Bs/mg (baisse de 28 %) après 12 mois, et à 2 122 UTI-Bs/mg (baisse de 29 %) après 24 mois. Cette baisse est jugée importante, mais le demandeur d'homologation signale qu'on procédera à l'estimation de la puissance de la MAQT immédiatement avant la fabrication du produit de formulation. Cette solution est acceptable à condition que les proportions des ingrédients de la formulation restent comprises dans les limites fixées sur le Formulaire de déclaration des spécifications du produit.

On a évalué la stabilité à l'entreposage à court terme d'un lot de VectoLex Technical Powder (22-515-BD) sous diverses conditions physiques. La température ne semble pas influencer sur la puissance de la poudre pendant des périodes atteignant jusqu'à 48 heures. Aucune baisse de la puissance n'a été observée après 24 ou 48 heures d'entreposage à 5 ou 50 °C. L'entreposage à l'air sec pendant une, deux ou quatre semaines à 25 °C n'a pas non plus modifié la puissance du produit. Lorsque les tests nécessitaient la mise en suspension de la MAQT dans l'eau (mesure des effets du pH et des ions métalliques sur la puissance), la croissance microbienne est devenue excessive après 48 heures. L'exposition d'une suspension de VectoLex Technical Powder à des ions métalliques [0,01 M de MgCl₂, NaCl, CuCl₂, FeCl₂, Pb(C₂H₃O₂)₃ ou SbCl₄] n'a pas agi sur la puissance du produit. Les échantillons d'essai en suspension dans l'eau ont tous perdu leur puissance entre 24 et 48 heures, tout comme les témoins non traités. Cet effet pourrait avoir été causé par la contamination microbienne des échantillons d'essai. Le pH est le paramètre dont l'effet sur la puissance a été le plus important pour les échantillons en suspension. À pH 5, la suspension reste stable pendant 48 heures, mais elle subit une baisse de puissance de 24 % après 24 heures à pH 7, et de 67 % après 24 heures à pH 9. Cet effet n'est pas surprenant puisqu'on sait que le pH alcalin qui caractérise l'intestin moyen des insectes solubilise le cristal parasporal du bacille. Enfin, une exposition de la VectoLex Technical Powder à un rayonnement solaire simulé conduit à une baisse importante de la puissance après 96 heures.

Selon les résultats des tests de stabilité à l'entreposage, les produits VectoLex WDG, VectoLex CG et VectoLex WSP restent stables pendant 12 mois lorsqu'ils sont entreposés dans leur emballage d'origine à 25 °C.

3.0 Effets sur la santé humaine et animale

Consulter le tableau 1 de l'annexe I ci-jointe.

3.1 Résumé d'ensemble sur la toxicité et l'infectiosité

Les études sur la toxicité et l'infectiosité aiguës présentées à l'appui de l'homologation de la VectoLex Technical Powder et des préparations commerciales VectoLex WDG, VectoLex CG et VectoLex WSP portaient notamment sur la toxicité et l'infectiosité aiguës par voie orale et par voie cutanée, sur l'infectiosité pulmonaire aiguë par inhalation, sur l'infectiosité par voie intraveineuse (i.v.) et sur l'irritation cutanée et oculaire. Nombre de ces études ont été qualifiées d'acceptables, mais on a jugé que pour certaines, des données supplémentaires seraient requises. La VectoLex Technical Powder ne semble pas trop toxique ni pathogène pour les rats lorsqu'elle est administrée par voie orale ou par inhalation; elle n'est pas pathogène pour les rats lorsqu'elle est administrée par voie i.v. L'étude sur la toxicité aiguë par voie cutanée révèle une irritation importante (érythème modéré à grave et œdème à peine perceptible), mais aucun signe de toxicité. Dans les études sur l'irritation, la VectoLex Technical Powder s'est montrée légèrement irritante pour la peau et les yeux des lapins. Le VectoLex WDG n'est pas toxique pour les rats lorsqu'il est administré par voie orale ou par inhalation ni pour les lapins lorsqu'appliqué par voie cutanée. Il est toutefois légèrement irritant pour la peau des lapins, et très légèrement irritant pour leurs yeux. Quant au VectoLex CG et au VectoLex WSP, l'obligation de conduire des tests de niveau I sur la pathologie et la toxicité aiguës pour les mammifères a été levée puisqu'on ne s'attend pas à ce que les propriétés toxicologiques et irritantes de ces produits soient supérieures à celles de la VectoLex Technical Powder. Ces produits sont toutefois considérés légèrement irritants pour les yeux puisqu'en l'absence de données sur cette question, tous les micro-organismes sont jugés irritants pour les yeux. La VectoLex Technical Powder et les PC sont également considérées comme des agents sensibilisateurs puisqu'on estime que tous les micro-organismes, y compris la souche 2362 de BspH, contiennent des substances qui peuvent déclencher une réaction allergique positive chez les animaux expérimentaux.

Tel qu'indiqué à la section 1.3, l'activité insecticide de la souche 2362 de BspH est attribuable à deux types distincts de toxines : la Mtx et la Btx. La Mtx exerce une activité insecticide réduite; elle est produite pendant la croissance végétative uniquement. La Btx est une toxine anti-moustique d'importance commerciale. Elle est libérée pendant la sporulation et s'accumule sous forme de cristal de protoxine à l'intérieur de l'exosporange. La Mtx est une toxine à activité ADP-ribosyl-transférase à large spectre qui présente en outre une homologie de séquences avec plusieurs toxines bactériennes des cellules eucaryotes, notamment la toxine diphtérique, l'exotoxine A de *Pseudomonas*, la toxine cholérique et l'anatoxine coquelucheuse; elle est donc susceptible de constituer une menace pour la santé humaine. Cependant, la protéine Mtx mature est liée à la membrane de la cellule végétative (protoxine) et doit être transformée par la chymotrypsine ou par l'extrait intestinal de moustique pour donner une toxine active. De plus, la protoxine Mtx est dégradée par les protéases intracellulaires pendant la

sporulation. Ainsi, dans un lot de production de Bsph de souche 2362 cultivé en phase stationnaire pour autoriser la sporulation et la formation de Btx, la toxine d'importance commerciale, on s'attend à trouver peu de Mtx. Bien que l'absence de Mtx dans les formulations VectoLex n'a pas été démontrée dans le cadre de la demande d'homologation, la toxine se désactive vraisemblablement pendant la transformation, laissant ainsi une quantité minimale, sinon nulle, de Mtx dans les formulations de PC. La Mtx n'est produite que dans les cellules végétatives; après pulvérisation du produit, les cellules végétatives ne devraient être présentes que dans les insectes hôtes une fois que les spores ingérées auront germées. Par conséquent, on ne prévoit qu'un léger contact entre la Mtx et l'humain.

En ce qui concerne les effets possibles sur le système endocrinien, rien dans la documentation scientifique n'indique que la souche 2362 de Bsph présente dans le VectoLex WDG, le VectoLex CG ou le VectoLex WSP ait causé ou risque de causer des effets néfastes sur le système endocrinien des animaux. Rien ne permet non plus de penser que cette souche puisse être capable de produire des génotoxines.

Aucun des produits de formulation utilisés pour la fabrication de la VectoLex Technical Powder et des préparations commerciales VectoLex WDG, VectoLex CG et VectoLex WSP ne présente de risque de toxicité.

3.2 Signalement de cas d'hypersensibilité

On a soumis une étude de sensibilisation cutanée au Bsph de souche 2362 en lieu et place d'une étude d'hypersensibilité chez les chercheurs et les personnes qui manipulent et appliquent les produits. En règle générale, les études de sensibilisation ne sont pas obligatoires puisqu'elles se limitent d'ordinaire à l'exposition cutanée et passent sous silence les autres voies d'exposition, telles que l'inhalation par exemple. Par ailleurs, la plupart des micro-organismes contiennent des substances qui déclenchent une réaction positive chez les animaux expérimentaux. En conséquence, toutes les formulations contenant des agents microbiens de lutte antiparasitaire sont considérées comme des substances sensibilisantes potentielles. La surveillance et le signalement des réactions d'hypersensibilité restent donc nécessaires.

3.3 Effets sur la santé humaine ou animale découlant de l'exposition à la matière active ou aux impuretés qu'elle contient

3.3.1 Évaluation de l'exposition professionnelle et occasionnelle

On s'attend à ce que les risques liés à l'exposition professionnelle et occasionnelle découlant des utilisations proposées du VectoLex WDG, du VectoLex CG et du VectoLex WSP varient sensiblement d'un produit à l'autre. La différence la plus marquante devrait s'observer entre le VectoLex WSP et les deux autres produits, le VectoLex CG et le VectoLex WDG. Le VectoLex WSP présente une formulation identique à celle du VectoLex CG, mais il se vend en sachets hydrosolubles et doit servir uniquement à la lutte contre les larves de moustiques *Culex* et *Culiseta* présentes dans les

puisards. Le VectoLex CG sert à la lutte contre les larves de moustiques qui appartiennent au genre *Culex* ainsi qu'aux genres *Culiseta* et *Aedes*; il est conçu aux fins d'épandage direct dans les marais d'eau douce et d'eau salée, les plaines inondables, les champs et les pâturages inondés, les terrains humides, les étangs, les bassins de retenue et de filtration d'eaux pluviales, les effluents d'eaux usées, les bassins et les étangs de stabilisation, les bassins de flottage, les réservoirs de retenue d'eaux usées, les tranchées d'épuration, les tranchées de drainage, y compris les égouts pluviaux à ciel ouvert et les tranchées d'irrigation, à l'aide d'équipements classiques d'épandage terrestre ou aérien. Ce produit peut également s'appliquer à la main dans les pneus usés. L'utilisation prévue du VectoLex WDG ressemble à celle du VectoLex CG. Il faut le diluer avant de le pulvériser dans les marais d'eau douce ou d'eau salée, les plaines inondables, les champs et les pâturages inondés, les terrains humides, les étangs, les bassins de retenue et de filtration d'eaux pluviales, les étangs de stabilisation, les bassins de flottage, les réservoirs de retenue d'eaux usées, les tranchées d'épuration et les tranchées de drainage, y compris les égouts à ciel ouvert et les tranchées d'irrigation, à l'aide d'équipements classiques de pulvérisation terrestre ou aérienne.

L'utilisation proposée du VectoLex WSP ne devrait donner lieu qu'à un risque minimal d'exposition professionnelle ou occasionnelle si on respecte le mode d'emploi figurant sur l'étiquette. Tel qu'indiqué précédemment, ce produit est livré en sachets hydrosolubles; le risque d'exposition est donc très faible. Par leur nature même, les sites d'épandage proposés limitent également les risques d'exposition puisqu'ils sont habituellement inaccessibles au public. Le risque d'exposition professionnelle et occasionnelle est beaucoup plus important dans le cas du VectoLex CG et du VectoLex WDG puisque ces produits sont conçus pour être épandus à la volée sur de grandes surfaces au moyen de pulvérisations terrestres ou aériennes (aéronef ou hélicoptère équipé d'une rampe classique ou d'un pulvérisateur centrifuge). Le VectoLex CG peut également s'appliquer à la main à l'intérieur des pneus usés. Ces deux produits sont destinés à un usage similaire, sauf que, pour être pulvérisé, le VectoLex WDG doit être dilué dans l'eau. Dans le cas du VectoLex CG, les activités de mélange, de chargement et de nettoyage présentent surtout un risque d'exposition cutanée; il existe cependant un risque d'inhalation, d'ingestion et d'exposition oculaire à cause des particules fines qui pourraient se trouver dans la PC. Dans le cas du VectoLex WDG, les activités de mélange et de chargement devraient principalement donner lieu à une exposition cutanée, mais il y a encore un risque d'inhalation, d'ingestion et d'exposition oculaire à cause des particules fines qui pourraient être présentes dans la PC. Par contre, pendant les activités de nettoyage, le risque d'exposition sera surtout cutané puisque les granulés sont mis en suspension dans l'eau le traitement. Les opérations d'épandage des deux produits donneront principalement lieu à un risque d'exposition cutanée et par inhalation, quoiqu'une exposition oculaire ou orale n'est pas exclue. Il existe par ailleurs un risque d'exposition occasionnelle près des zones traitées, mais il devrait être atténué si l'épandage du VectoLex CG et du VectoLex WDG est réalisé sous des conditions météorologiques appropriées.

Comme les études de niveau I sur la toxicité aiguë pour les mammifères montrent que ces produits ne sont ni toxiques ni pathogènes, on recommande d'indiquer sur les étiquettes de ces trois PC qu'il suffit de porter un équipement de protection individuelle classique, soit une chemise à manches longues, des pantalons, des chaussettes et des chaussures. Les étiquettes du VectoLex WDG et du VectoLex CG doivent en outre exiger le port de gants imperméables et d'un respirateur avec filtre anti-poussière et anti-brouillard (approuvé par la Mine Safety and Health Administration, National Institute for Occupational Safety and Health [MSH/NIOSH]; préfixe du numéro d'approbation TC-21C) ou un respirateur approuvé NIOSH avec un filtre N-95, R-95, P-95 ou HE. Le port du respirateur est requis pour réduire les risques d'allergies ou d'autres types de réactions d'hypersensibilité chez les travailleurs exposés à l'inhalation répétée de la souche 2632 de BspH. Il devrait également permettre d'éviter l'accumulation graduelle possible des spores de BspH dans les poumons des travailleurs exposés à répétition, compte tenu du fait que les études sur l'exposition pulmonaire aiguë à la VectoLex Technical Powder ont révélé une longue période de clairance pulmonaire. Par ailleurs, l'étiquette du VectoLex CG exige le port de lunettes de sécurité puisque ce produit est légèrement irritant pour les yeux. L'étiquette du VectoLex WSP n'exige pas le port de lunettes ni d'un respirateur lors de la manipulation de sachets hydrosolubles intacts. Ces sachets doivent être conservés au sec puisque leur intégrité risque d'être compromise s'ils sont exposés à l'eau.

4.0 Résidus

4.1 Sommaire des données sur les résidus

La souche 2362 de BspH ne sera pas utilisée directement sur les aliments destinés aux humains ou aux animaux ni dans l'eau traitée et prête au débit. Toutefois, il est possible que des spores vivantes de BspH se retrouvent sur les culturesensemencées dans des champs traités ou irrigués avec de l'eau traitée. Les spores de BspH peuvent également se retrouver dans l'eau potable, puisqu'on ignore si les systèmes municipaux d'épuration de l'eau pourront les éliminer. Compte tenu de l'absence d'effets indésirables constatée dans le cadre d'études sur la toxicité et l'infectiosité chez les mammifères, ce type d'exposition ne devrait pas entraîner d'effets néfastes. En conséquence, il n'est pas nécessaire d'établir une limite maximale de résidus (LMR) pour BspH en vertu de la *Loi sur les aliments et drogues* et de son Règlement.

5.0 Comportement et devenir dans l'environnement

Il n'a pas été nécessaire d'obtenir des données sur le devenir dans l'environnement (niveaux II et III) car il est probable que pour la plupart des organismes non ciblés, l'utilisation proposée de l'AMLA n'entraînera aucun effet néfaste. Bien qu'une étude écotoxicologique de niveau supérieur ait été commandée, cela ne justifie pas en soi, pour le moment, la réalisation d'études sur le devenir de l'agent microbien dans l'environnement.

5.1 Concentrations prévues dans l'environnement

On a calculé une concentration prévue dans l'environnement (CPE) de 1,1 mg par litre (L) pour l'AMLA après une seule pulvérisation dans l'eau, en supposant une profondeur de 15 centimètres (cm), tel qu'indiqué dans la directive d'homologation [DIR2001-02](#), *Directive sur l'homologation des agents antiparasitaires microbiens et de leurs produits*, et un scénario dans lequel on applique une seule fois la dose maximale du VectoLex WDG de 1,68 kg/ha indiquée sur l'étiquette. On a choisi le VectoLex WDG pour calculer la CPE puisque sa puissance (650 UTI-Bs/mg) s'approche de celle de la VectoLex Technical Powder (670 UTI-Bs/mg).

Il est à prévoir que les produits VectoLex seront utilisés plus d'une fois par saison. Le calcul d'une CPE correspondant à des utilisations répétées fait appel à une variable traduisant la persistance de la matière active : on a habituellement recours à la demi-vie, en supposant une cinétique de dégradation de premier ordre. La notion de demi-vie n'a pas de sens pour un organisme vivant capable de se reproduire dans le milieu. Ainsi, pour définir la persistance de l'AMLA, il a fallu s'en remettre aux études recensées dans la littérature scientifique traitant du devenir environnemental. Dans le cadre d'une étude sur la persistance des spores de la souche 2362 de BspH dans le milieu aquatique (Yousten et coll., 1992), on a inoculé l'AMLA à des échantillons d'eau qui ont ensuite été placés en incubation sous diverses conditions ambiantes. Les spores ont été récupérées selon une série de périodes d'incubation. Les échantillons d'eau recueillis ont été chauffés à 80 °C pendant 15 minutes, puis ensemencés sur plaques de gélose nutritive contenant de la levure et des extraits de sels et de minéraux (Nutrient Yeast Extract Mineral Salts Medium ou NYSM). Les plaques ont été incubées à 30 °C pendant 48 heures, et les colonies comptées. Soulignons que le traitement thermique utilisé au moment de récupérer les spores tue les cellules végétatives et qu'il est donc impossible de distinguer une baisse du nombre de spores due à la mort des cellules d'une baisse due à la germination des spores. En laboratoire, dans un échantillon d'eau d'étang filtrée (teneur en carbone organique dissous [COD] de 1,5 mg/L), on a observé une baisse de 30 % du nombre de spores thermorésistantes après 238 jours. Dans de l'eau d'étang non filtrée contenant des sédiments fins composés de feuilles en putréfaction et d'autres matières organiques (COD de 158 mg/L), il y avait baisse de 64 % du nombre de spores thermorésistantes après 35 jours, de 90 % après 63 jours et de 92 % après 238 jours. Toutefois, dans une expérience subséquente, le dénombrement des spores thermorésistantes a été réalisé de concert avec un dénombrement direct au microscope à l'aide d'un colorant vital (orange d'acridine) qui permet de détecter les cellules végétatives viables. On a observé une baisse de 97,5 % du nombre de spores thermorésistantes après 49 jours, mais la numération directe au microscope n'a révélé aucune baisse. Les auteurs ne se sont pas prononcés sur la signification de cette différence, mais leurs résultats suggèrent que la réduction du nombre de spores serait attribuable à la germination et à la croissance des cellules végétatives plutôt qu'à la mort des spores. Si tel était le cas, les taux de réduction du nombre d'organismes observés dans le milieu aquatique pourraient être mis en doute, ce qui a conduit à juger cette étude inacceptable.

On a calculé une valeur prudente de la CPE en utilisant une valeur très élevée de la demi-vie (10 000 jours, soit plus de 27 ans). Même si les spores de la souche 2362 du BspH sont sensibles à certains éléments physiques et biologiques du milieu, elles pourraient s'accumuler dans la couche benthique des habitats aquatiques, à l'abri des rayonnements ultraviolets et solaire. Par ailleurs, le phénomène du « recyclage » (propagation des spores dans les larves de moustiques) et la reproduction possible dans les milieux riches en matières nutritives pourraient contribuer à maintenir le nombre de spores sur de longues périodes de temps. Les étiquettes des produits VectoLex indiquent qu'il convient d'attendre au moins sept jours entre chaque épandage, mais elles ne limitent pas le nombre total d'applications. Pour les besoins de ce calcul, nous avons utilisé une saison d'une durée maximale de 20 semaines, avec des épandages hebdomadaires à la concentration maximale de 1,68 kg/L prescrite sur l'étiquette du VectoLex WDG, dans un plan d'eau de 15 cm de profondeur. La CPE ainsi calculée, représentant l'accumulation maximale concevable d'AMLA au cours d'une seule saison, se chiffre à 22,3 mg/L.

6.0 Effets sur les espèces non ciblées

6.1 Effets sur les organismes terrestres

Les études présentées concernant les effets sur l'environnement terrestre, semblent montrer que BspH présente une faible toxicité pour les oiseaux. Par ailleurs, des études avec exposition aiguë par voie orale portant sur des doses à risque maximal administrées à des rongeurs n'ont révélé aucun effet nocif important et laissent supposer une infectiosité et une toxicité minimales pour les mammifères sauvages. Les études soumises indiquent également que BspH est peu toxique pour les abeilles. Même si les tests non ciblés portant sur d'autres insectes que les abeilles ne fournissent que des données qualifiées de complémentaires, les essais réalisés sur les abeilles suffisent à répondre aux exigences relatives aux arthropodes terrestres non ciblés. Les données des bio-essais complémentaires sous-entendent que BspH est toxique pour *Trichoplusia ni* et pour *Leptinotarsa decemlineata* lorsqu'il est administré à fortes doses dans les aliments, et que la gamme de ses hôtes pourrait être plus vaste qu'on ne le croyait auparavant. Il importe de bien délimiter l'éventail des hôtes arthropodes de la souche 2362 du BspH. C'est la raison pour laquelle il convient de recourir à un bio-essai de rechange. On a décidé de lever l'obligation de réaliser des tests sur d'autres invertébrés que les arthropodes. Un examen approfondi de la littérature scientifique n'a permis de relever qu'un seul exemple possible d'incidence sur d'autres invertébrés que les arthropodes : une demande de brevet pour l'utilisation d'un extrait de spores de BspH afin d'inhiber l'éclosion d'œufs de nématodes. BspH n'est pas réputé pathogène pour les nématodes. Il n'a pas été nécessaire de fournir des données sur les effets des produits VectoLex sur les micro-organismes du sol puisque ces produits ne sont pas conçus pour lutter contre les micro-organismes nuisibles et que les risques qu'ils posent pour les micro-organismes du sol restent limités, compte tenu de leurs caractéristiques biologiques et écologiques et de leur profil d'emploi. L'obligation de procéder à des tests sur des végétaux terrestres a également été levée en raison de la gamme étroite des hôtes de BspH, qui se limitent à la

classe des insectes. On ne reconnaît à Bsph aucun effet pathogène sur les végétaux, et aucun cas d'effet nocif sur les plantes n'est signalé après plus d'une décennie d'utilisation aux États-Unis, notamment dans des rizières. Les renseignements et les données fournis concernant les effets sur l'environnement terrestre sont jugés suffisants, sauf en ce qui concerne la définition de l'éventail des hôtes arthropodes de l'AMLA. Tel qu'indiqué ci-dessus, un bio-essai de rechange est requis dans ce cas.

Le tableau 1 de l'annexe II présente un résumé des effets sur les organismes terrestres.

6.2 Effets sur les organismes aquatiques

Les études soumises portant sur les effets de la souche 2362 de Bsph semblent montrer qu'elle est pratiquement inoffensive pour les oiseaux aquatiques (canard colvert), les poissons dulçaquicoles et marins, les larves de chironomes, les crustacés de l'ordre des mysidacés et les algues unicellulaires. Cette souche est par ailleurs légèrement toxique pour le cladocère aquatique *Daphnia magna*. On a établi une valeur de la concentration efficace à 50 % (CE₅₀) après 31 jours de $2,82 \times 10^{10}$ cellules souches unipotentes par litre (CFU/L), et une valeur de la concentration sans effet observé (CSEO) sur la croissance et la reproduction de $4,86 \times 10^9$ CFU/L. Ces concentrations dépassent celles auxquelles on s'attendait, même à l'issue d'épandages répétés de VectoLex sur une longue saison de production à la concentration la plus élevée autorisée sur l'étiquette.

Des tests réalisés sur des poissons et des invertébrés dulçaquicoles et marins ont permis d'observer que la présence de la souche 2362 du Bsph dans le milieu aquatique entraîne une baisse marquée de la teneur en oxygène dissous, avec des signes cliniques et comportementaux subséquents d'hypoxie chez les organismes exposés (par exemple, visites fréquentes à la surface du mené tête-de-mouton, *Cyprinodon variegatus*). Cet effet dépend très étroitement de la concentration du bacille et ne devrait pas s'observer aux doses d'application prescrites sur l'étiquette. De plus, plusieurs des sites traités, en particulier ceux qui abritent des organismes non visés, devraient normalement bénéficier d'une bonne aération grâce à l'effet du vent et des vagues.

Le risque d'une hypoxie importante du point de vue écologique dans les masses d'eau traitées est jugé faible. L'exposition des huîtres (*Crassostrea virginica*) à des concentrations élevées de la souche 2362 du Bsph provoque un ralentissement sensible du dépôt de coquille. Cet effet ne semble pas lié à l'hypoxie. On a mesuré une CE₅₀ sur 96 heures de 42 mg/L (soit environ 2×10^6 CFU/L) pour le dépôt de coquille. Les huîtres exposées à des concentrations d'essai égales ou supérieures à la CE₅₀ cessent de se nourrir; chez celles exposées à 29 mg/L de Bsph il y a baisse de l'appétit. La CPE correspondant à une saison de 20 semaines d'épandages hebdomadaires à la concentration maximale équivaldrait à la CSEO pour le dépôt de coquille des huîtres si la demi-vie de la souche 2362 du Bsph dans le milieu aquatique était de 106 jours. Étant donné que l'AMLA est un organisme vivant, la détermination d'une demi-vie n'a pas de sens en soi, mais il est possible, voire vraisemblable, qu'il persiste pendant 106 jours. Il convient donc de procéder à une étude sur la toxicité et l'infectiosité à plus long terme chez l'huître ou un bivalve dulçaquicole sensible retrouvé au Canada. Une des études

relevées dans la documentation scientifique (Lacey et Mulla, 1990) qui s'intéressait particulièrement aux arthropodes aquatiques prédateurs se nourrissant de larves de moustiques ou partageant leur habitat a montré que l'utilisation de la souche 2362 de BspH aux concentrations prescrites pour tuer les larves de moustiques présentait peu de risques pour les arthropodes aquatiques non visés. Les renseignements et les données présentées concernant les effets sur l'environnement aquatique sont suffisants, sauf en ce qui a trait à la toxicité pour les mollusques. Tel que mentionné ci-dessus, il convient de procéder à une étude à long terme des effets du bacille sur l'huître ou sur un autre bivalve dulçaquicole canadien.

Le tableau 2 de l'annexe II présente un résumé des effets sur les organismes aquatiques.

7.0 Efficacité

7.1 Efficacité du VectoLex WSP, VectoLex CG et VectoLex WDG contre les organismes visés

7.1.1 Utilisations prévues

La société Valent Biosciences Ltd. a déposé une demande d'homologation aux fins de l'usage restreint de trois PC contenant la souche 2362 de BspH : les larvicides biologiques VectoLex WSP contenant 50 UTI-Bs/mg (sachets de 10 g), VectoLex CG contenant 50 UTI-Bs/mg et VectoLex WDG contenant 650 UTI-Bs/mg. Tous ces produits sont conçus pour la lutte contre les larves de moustiques dans les sites aquatiques à usage non alimentaire (CU n° 2). Les tableaux suivants fournissent une description détaillée des utilisations prévues pour ces produits.

Allégations proposées pour l'étiquette de VectoLex WSP

Espèces traitées	Larves d'espèces de moustiques sensibles au BspH, y compris <i>Culex pipiens</i> , <i>Culex restuans</i> , <i>Culiseta incidens</i> et <i>Culiseta inornata</i>
Catégorie d'utilisation	Puisards
Dose prescrite	Un sachet de 10 g par puisard
Période d'application	Appliquer sur les sites de reproduction où se trouvent des larves de moustiques.
Intervalle entre applications	Procéder à de nouveaux traitements au besoin, après 1 à 4 semaines.
Méthode d'épandage	Déposer les sachets dans les puisards à la main.

Allégations proposées pour l'étiquette de VectoLex CG

Espèces traitées : larves des espèces de moustiques énumérées ci-contre	<i>Culex</i> spp., <i>Aedes vexans</i> , <i>Aedes cinereus</i> , <i>Aedes (Ochlerotatus) triseriatus</i> , <i>Aedes (Ochlerotatus) dorsalis</i> , <i>Aedes (Ochlerotatus) melanimon</i> , <i>Aedes (Ochlerotatus) nigromaculis</i> , <i>Aedes (Ochlerotatus) stimulans</i> , <i>Aedes (Ochlerotatus) trivittatus</i> , <i>Culiseta incidens</i> , <i>Culiseta inornata</i>
Catégories d'utilisation et doses prescrites	Plans d'eau (5,5-6,5 kg par hectare [ha]) : marais d'eau douce et d'eau salée, plaines inondables, champs et pâturages inondés, terres humides, étangs, bassins de retenue et de filtration d'eaux pluviales, effluents d'eaux usées, bassins et étangs de stabilisation des eaux usées, bassins de flottage, réservoirs de retenue d'eaux usées, tranchées de drainage et d'épuration, y compris les égouts pluviaux à ciel ouvert et les tranchées d'irrigation. Pneus usés : 0,376 g/pneu, en application directe seulement.
Période d'application	Épandre sur les sites de reproduction où se trouvent des larves de moustiques, de l'éclosion des œufs jusqu'au 4 ^e stade larvaire.
Intervalle entre applications	Procéder à de nouveaux traitements au besoin, après 1 à 4 semaines.
Méthodes d'épandage	Appliquer directement sans dilution préalable à l'aide d'équipements d'épandage terrestre ou aérien.

Allégations proposées pour l'étiquette de VectoLex WDG

Espèces traitées : larves des espèces de moustiques énumérées ci-contre	<i>Culex</i> spp., <i>Aedes vexans</i> , <i>Aedes cinereus</i> , <i>Aedes (Ochlerotatus) triseriatus</i> , <i>Aedes (Ochlerotatus) dorsalis</i> , <i>Aedes (Ochlerotatus) melanimon</i> , <i>Aedes (Ochlerotatus) nigromaculis</i> , <i>Aedes (Ochlerotatus) stimulans</i> , <i>Aedes (Ochlerotatus) trivittatus</i> , <i>Culiseta incidens</i> , <i>Culiseta inornata</i>
Catégories d'utilisation et doses prescrites	Plans d'eau (0,55-1,7 kg/ha) : marais d'eau douce et d'eau salée, plaines inondables, champs et pâturages inondés, terrains humides, étangs, bassins de retenue et de filtration d'eaux pluviales, effluents d'eaux usées, bassins et étangs de stabilisation des eaux usées, bassins de flottage, réservoirs de retenue d'eaux usées, tranchées de drainage et d'épuration, y compris les égouts pluviaux à ciel ouvert et les tranchées d'irrigation.
Période d'application	Appliquer sur les sites de reproduction où se trouvent des larves de moustiques, de l'éclosion des œufs jusqu'au 4 ^e stade larvaire.
Intervalle entre applications	Procéder à de nouveaux traitements au besoin, après 1 à 4 semaines.
Méthodes d'épandage et volumes d'eau	Pulvérisation aérienne : diluer au préalable dans 5 à 90 L d'eau; Pulvérisation terrestre : diluer au préalable dans 10 à 200 L d'eau.

7.1.2 Mode d'action

La matière active du VectoLex WSP, du VectoLex CG et du VectoLex WDG est la souche 2362 de *Bacillus sphaericus*, une bactérie sporulée dont l'ingestion est toxique pour les larves de nombreuses espèces de moustiques. Pendant la sporulation, BspH produit une toxine cristalline composée de deux protéines. Lorsque les spores sont ingérées par les larves de moustiques, la matrice cristalline se dissout rapidement et devient active dans la lumière de l'intestin moyen sous l'effet combiné des protéinases et du pH élevé de cette portion de l'appareil digestif. Cette libération de toxines à partir des cristaux s'observe chez toutes les espèces de moustiques, y compris chez les moins sensibles comme *Aedes aegypti*. La différence observée dans la sensibilité à BspH entre les diverses espèces de moustiques dépend de la présence, sur les membranes de l'intestin moyen, d'un récepteur particulier auquel se lient les protéines de la toxine. Chez les espèces moins sensibles, il n'y aurait pas autant de ces récepteurs; les toxines ne se lient donc pas aux membranes ou s'échappent rapidement des cellules de l'intestin moyen. Chez les espèces sensibles, les dommages à l'intestion sont évidents 15 minutes à peine après l'ingestion des spores, puis les larves meurent. Les recherches antérieures ont démontré que les espèces du genre *Culex* sont plus sensibles à BspH que celles du genre *Aedes*.

7.1.3 Catégories d'utilisation

On suggère l'emploi du VectoLex WSP dans les puisards.

Le VectoLex CG est proposé pour le traitement de divers types de plans d'eau : marais d'eau douce et d'eau salée, plaines inondables, champs et pâturages inondés, terrains humides, étangs, bassins de retenue et de filtration d'eaux pluviales, effluents d'eaux usées, bassins et étangs de stabilisation, bassins de flottage, réservoirs de retenue d'eaux usées, tranchées de drainage et d'épuration, y compris égouts pluviaux, fossés d'irrigation à ciel ouvert et pneus usés (application directe sur chaque pneu).

Le VectoLex WDG est destiné à être épandu sur divers types de plans d'eau : marais d'eau douce et d'eau salée, plaines inondables, champs et pâturages inondés, terrains humides, étangs, bassins de retenue et de filtration d'eaux pluviales, effluents d'eaux usées, bassins et étangs de stabilisation, bassins de flottage, réservoirs de retenue d'eaux usées, tranchées d'épuration et tranchées de drainage, y compris égouts pluviaux et fossés d'irrigation à ciel ouvert.

7.1.4 Efficacité contre les organismes nuisibles

7.1.4.1 Efficacité du VectoLex WSP

7.1.4.1.1 *Culex* spp. dans les puisards

Cinq essais réalisés au Canada (Colombie-Britannique, Ontario et Québec) et dans le nord des États-Unis (Illinois, Massachusetts, Michigan et Oregon) ont permis d'évaluer l'efficacité du VectoLex WSP contre les larves de *Culex pipiens*, de *Culex restuans* et de *Culex stigmatosoma* dans les puisards. Le produit a été distribué à la main, à raison d'un sachet par puisard (dose d'application testée). La superficie des puisards utilisés aux fins des essais variait de 0,25 à 1 mètre carré (m²). On a dénombré les larves des premiers stades de développement présentes dans des échantillons d'eau prélevés à l'aide d'une louche avant le début du traitement. Après le traitement, l'efficacité du produit a été évaluée par dénombrement des larves et des pupes de moustiques présentes dans les échantillons d'eau prélevés à intervalles réguliers, mesurés en jours ou en semaines. Il s'agissait de comparer le nombre de larves et de pupes présentes dans les échantillons traités à celui observé dans les échantillons témoins non traités, puis de calculer l'efficacité du produit en pourcentage de larves de moustiques. On a calculé une réduction du nombre de larves variant de 94 à 100 % dans tous les essais, une semaine après le traitement. Le pourcentage de réduction mesuré après une semaine variait, et une réduction du nombre de larves de plus de 90 % a persisté pendant deux à six semaines après le traitement, selon l'essai considéré. Un des essais a montré une réduction de plus de 98 % du nombre de larves 15 semaines après le traitement. Étant donné la nature imprévisible des sites aquatiques, il serait peut-être utile de procéder, une semaine après le traitement, à une nouvelle application en tenant compte des résultats des dénombrements obtenus. Selon les données recueillies, il peut normalement s'écouler jusqu'à une semaine avant que le produit ne donne une réduction du nombre de larves de 100 %.

Au Canada, il n'existe que quatre espèces de *Culex* : *Culex pipiens*, *Culex restuans*, *Culex tarsalis* et *Culex territans*. Toutes les espèces testées se sont montrées sensibles aux toxines de Bsph. L'allégation d'efficacité antiparasitaire contre les espèces *Culex* s'appuie sur les données soumises, recueillies dans le cadre des tests d'efficacité.

L'allégation d'efficacité antiparasitaire du produit utilisé dans les puisards à raison d'un sachet par puisard contre les espèces du genre *Culex* est jugée acceptable. La répétition du traitement est autorisée à la condition de n'être faite qu'à intervalles de plus d'une semaine, si les résultats des échantillonnages le justifient. Le VectoLex WSP devrait être utilisé pendant le développement des larves de moustiques, et de préférence, dès les premiers stades larvaires.

7.1.4.1.2 *Culiseta* spp. dans les puisards

Trois essais réalisés en Colombie-Britannique, au Québec et en Oregon ont permis d'évaluer l'efficacité du VectoLex WSP contre les larves du *Culiseta incidens* et du *Culiseta inornata* dans les puisards. Le produit a été distribué à la main, à raison d'un sachet par puisard, lorsque des larves de moustiques étaient présentes. On a obtenu une réduction de 100 % du nombre de larves une semaine après l'application, et une réduction au-delà de 90 % jusqu'à quatre semaines après le traitement. L'efficacité du produit contre les *Culiseta* spp. quatre semaines après le traitement n'a pas été vérifiée. Les données ont montré que ce produit nécessite d'ordinaire jusqu'à une semaine pour obtenir une réduction de 100 % du nombre de larves.

Il existe sept espèces de *Culiseta* au Canada. *Culiseta incidens* et *Culiseta inornata* sont les plus abondantes; elles partagent souvent le même habitat que les *Culex* spp. Dans l'ensemble, les espèces de *Culiseta* ne sont pas moins sensibles aux toxines de Bsph que celles des *Aedes*. L'allégation d'efficacité antiparasitaire contre les *Culiseta* spp. s'appuie sur les données présentées, recueillies dans le cadre des tests d'efficacité, et sur les similitudes biologiques observées entre les principales espèces canadiennes du genre *Culiseta*.

L'allégation d'efficacité antiparasitaire du produit utilisé dans les puisards à raison d'un sachet par puisard contre les espèces du genre *Culiseta* est jugée acceptable. La répétition du traitement est autorisée à condition de n'être faite qu'à intervalles de plus d'une semaine, si les résultats des échantillonnages le justifient.

7.1.4.2 Efficacité du VectoLex CG

7.1.4.2.1 *Culex* spp. dans divers plans d'eau (sauf les pneus usés et les puisards)

Trente et un essais réalisés au Canada (Colombie-Britannique, Manitoba et Québec) et aux États-Unis (Californie, Connecticut, Iowa, Michigan, Oregon, Pennsylvanie, Texas, Utah et Washington) ont permis d'évaluer l'efficacité du VectoLex CG contre les larves de *Culex pipiens*, *Culex tarsalis*, *Culex territans* et *Culex restuans* dans divers milieux aquatiques (étangs artificiels, fossés, champs inondés, étangs à eaux résiduaires, étangs d'eaux de laiterie, champs de maïs irrigués, rizières, pâturages irrigués pour chevaux, étangs sylvestres, terrains humides, marécages, cours d'eau temporaires, bassins d'amarrage, terrains marécageux et bassins de stabilisation des eaux usées). Le produit a été pulvérisé sans dilution préalable, par épandages terrestres ou aériens, à des doses d'application variant de 2,2 à 22,4 kg/ha. On a obtenu une réduction du nombre de larves supérieure à 90 % qui a duré de une à sept semaines à des concentrations variant entre 5,6 à 16,8 kg/ha, selon l'essai considéré. Deux essais d'efficacité réalisés à des doses inférieures à 5,6 kg/ha ont donné de moins bons résultats. Dans les plans d'eau où il y a

beaucoup de matières en suspension, la dose d'application de 16,8 kg/ha a produit de meilleurs résultats que les doses inférieures. On a par ailleurs observé qu'il faut habituellement jusqu'à une semaine pour obtenir une réduction de 100 % du nombre de larves avec le VectoLex WDG.

L'allégation d'efficacité antiparasitaire du produit utilisé à raison de 5,6 à 16,8 kg/ha contre les espèces du genre *Culex* est jugée acceptable, les concentrations les plus élevées étant recommandées pour les plans d'eau contenant beaucoup de matières en suspension. La répétition du traitement est autorisée à condition de n'être faite qu'à intervalles de plus d'une semaine, si les résultats des échantillonnages le justifient. Le VectoLex CG devrait être utilisé pendant le développement des larves de moustiques, et de préférence, dès les premiers stades larvaires.

7.1.4.2.2 *Culiseta* spp. dans divers plans d'eau (sauf les pneus usés et les puisards)

Quatre tests réalisés au Manitoba, en Oregon et dans l'État de Washington ont permis d'évaluer l'efficacité du VectoLex CG contre les larves de *Culiseta incidens* et de *Culiseta inornata* dans les pâturages et les étangs artificiels. Le produit a été utilisé à des concentrations variant de 2,3 à 16,5 kg/ha. On a obtenu une réduction du nombre de larves supérieure à 90 % pendant deux à trois semaines aux doses d'application variant de 5,5 à 16,5 kg/ha. Aucune mesure n'a été effectuée au-delà de trois semaines après le traitement. Un essai réalisé avec une concentration de 2,3 kg/ha a donné des résultats inférieurs à ceux obtenus à des concentrations plus élevées.

L'allégation d'efficacité antiparasitaire du produit utilisé contre les espèces du genre *Culiseta* à raison de 5,6 à 16,8 kg/ha et à une concentration plus élevée dans les milieux aquatiques caractérisés par une teneur élevée en matière en suspension est jugée acceptable.

7.1.4.2.3 *Aedes* spp. dans divers plans d'eau (sauf les pneus usés et les puisards)

Aedes vexans : Quatre essais réalisés en Colombie-Britannique et aux États-Unis (Michigan, New Jersey et Washington) ont permis d'évaluer l'efficacité du VectoLex CG contre les larves d'*Aedes vexans* dans les rivières en crue, les émissaires d'évacuation, les pâturages irrigués et les fossés. Le produit a été appliqué par épandages terrestres pour lutter contre les larves, à des concentrations variant de 5 à 16,8 kg/ha. On a obtenu une réduction du nombre de larves variant entre 85 et 100 % qui a duré jusqu'à cinq jours. Aucun contrôle n'a été réalisé au-delà de cette période.

Aedes (Ochlerotatus) melanimon : Deux essais réalisés en Californie ont permis d'évaluer l'efficacité du VectoLex CG contre une population mixte de *Culex* spp. et d'*Aedes (Ochlerotatus) melanimon* dans des jachères inondées et des terres humides. Le produit a été appliqué par épandages aériens. Le premier essai réalisé à une concentration

de 5,6 kg/ha a donné une réduction du nombre de larves de 100 % qui a duré 17 jours. Il n'y a pas eu de groupe témoin non traité dans cet essai; on ignore donc si la réduction de 100 % observée était due au traitement ou à un déclin naturel de la population. Le second essai a été réalisé sur une population de larves de très faible densité et ses résultats sont donc sujets à caution.

Aedes (Ochlerotatus) dorsalis : Un essai réalisé en Utah a permis d'évaluer l'efficacité du VectoLex CG contre les larves d'*Aedes (Ochlerotatus) dorsalis* dans un pâturage irrigué. Le produit a été appliqué par épandages aériens à raison de 11,2 kg/ha. On a obtenu une réduction du nombre de larves de 98 % qui a duré 14 jours. Il n'y a pas eu de groupe témoin non traité dans cet essai; on ignore donc si la réduction de 100 % observée était due au traitement ou à un déclin naturel de la population.

Aedes (Ochlerotatus) nigromaculis : Un essai réalisé en Californie a permis d'évaluer l'efficacité du VectoLex CG contre les larves d'*Aedes (Ochlerotatus) nigromaculis* dans un pâturage irrigué. Le produit a été appliqué par épandages terrestres à raison de 2,8 ou de 5,6 kg/ha. On a obtenu respectivement une réduction du nombre de larves de 91 et de 98 %, deux jours après le traitement. Aucun contrôle n'a été réalisé au-delà de cette période. La densité de la population témoin une semaine après le traitement est restée inconnue.

Aedes (Ochlerotatus) trivittatus : Un essai réalisé en Iowa a permis d'évaluer l'efficacité du VectoLex CG contre une population mixte de *Culex pipiens* et d'*Aedes (Ochlerotatus) trivittatus* dans des fossés. Le produit a été appliqué par épandages terrestres à raison de 2,8 ou de 5,6 kg/ha. L'évaluation a été réalisée trois jours après le traitement. Les épandages n'ont eu aucun effet sur *Aedes (Ochlerotatus) trivittatus* aux deux concentrations testées; ils se sont toutefois révélés efficaces contre *Culex pipiens* aux mêmes concentrations.

Aedes cinereus*, *Aedes (Ochlerotatus) triseriatus* et *Aedes (Ochlerotatus) stimulans : Aucune étude d'efficacité n'a été soumise.

Les données présentées étayent l'allégation d'efficacité antiparasitaire contre *Aedes vexans*, mais révèlent une efficacité variable du VectoLex CG pour la lutte contre les autres espèces d'*Aedes* et d'*Ochlerotatus*. L'allégation d'efficacité antiparasitaire contre *Aedes vexans* est acceptable. Il conviendrait d'indiquer sur l'étiquette que le produit donne des résultats variables contre les autres espèces d'*Aedes* et d'*Ochlerotatus*.

7.1.4.2.4 *Culex* spp. et *Culiseta* spp. dans les puisards

Un essai réalisé en Illinois a permis d'évaluer l'efficacité du VectoLex CG contre les larves d'*Aedes (Ochlerotatus) triseriatus*, de *Culex restuans*, de *Culex pipiens* et d'*Anopheles punctipennis* vivant dans les pneus usés. Le produit a été appliqué manuellement, à raison de 0,376 g par pneu suspendu à une clôture. On a obtenu une réduction de 100 % du nombre de larves d'*Aedes (Ochlerotatus) triseriatus*, de *Culex restuans* et de *Culex pipiens* qui a duré 25 jours, comparativement aux sites témoins non

traités. Toutefois, le traitement n'était pas efficace contre les larves d'*Anopheles punctipennis*. La concentration proposée de 0,376 g par pneu n'est peut-être pas adéquate pour tous les types de pneus, dont la taille peut varier considérablement. La quantité de produit utilisée par m² de surface d'eau constitue en l'occurrence une mesure plus appropriée. Il est possible d'extrapoler les doses d'application acceptables pour les autres habitats aquatiques au volume d'eau contenu à l'intérieur d'un pneu.

L'allégation d'efficacité antiparasitaire du produit utilisé à raison de 0,56 à 1,68 g par m² de surface d'eau dans les pneus usés contre les espèces des genres *Culex* et *Culiseta* et contre *Aedes (Ochlerotatus) triseriatus* n'est acceptable que si le produit peut être appliqué directement sur chaque pneu. La concentration plus élevée est requise lorsque l'eau contient beaucoup de matières en suspension. L'utilisation d'un larvicide n'est pas le meilleur moyen de lutter contre les moustiques qui se reproduisent dans les pneus usés. Il est préférable d'éliminer l'eau qui s'accumule dans ces pneus en les déchiquetant, en les perforant, en les enfouissant ou en les éliminant d'une autre façon.

7.1.4.3 Efficacité du VectoLex WDG

7.1.4.3.1 *Culex* spp. dans divers plans d'eau (sauf les pneus usés et les puisards)

Vingt-neuf essais réalisés en Colombie-Britannique et aux États-Unis (Californie, Michigan, Oregon, Pennsylvanie, Texas et Washington) ont permis d'évaluer l'efficacité du VectoLex WDG contre les larves de *Culex pipiens*, *Culex tarsalis*, *Culex quinquefasciatus*, *Culex solinarius* et *Culex nigripalpus* dans divers milieux aquatiques (étangs artificiels, cours d'eau, pâturages inondés, bassins de stabilisation des eaux usées, canadières inondées, fossés d'irrigation, terres humides, étangs à eaux résiduaires, cours d'eau en crue, bassins de retenue des eaux pluviales, tranchées d'épuration, étangs sylvestres, rizières et marais salés). Le produit a été préalablement dilué dans l'eau puis appliqué par pulvérisations terrestres ou aériennes aux endroits où se trouvaient des larves de moustiques, à des doses d'application variant de 0,56 à 1,68 kg/ha. On a obtenu une réduction du nombre de larves supérieure à 90 % qui a duré de deux à quatre semaines, selon l'essai. Dans les plans d'eau où il y a beaucoup de matières en suspension, le taux de pulvérisation supérieur donne de meilleurs résultats. On a par ailleurs observé qu'il faut d'ordinaire jusqu'à une semaine pour obtenir une réduction de 100 % du nombre de larves avec le VectoLex WDG.

L'allégation d'efficacité antiparasitaire du produit utilisé à raison de 0,56 à 1,68 kg/ha contre les espèces du genre *Culex* est jugée acceptable, les concentrations les plus élevées étant recommandées pour les plans d'eau contenant beaucoup de matières en suspension. La répétition du traitement est autorisée à condition d'être faite à intervalle de plus d'une semaine, si les résultats des échantillonnages le justifient. Le VectoLex CG devrait être utilisé pendant la période de développement des larves de moustiques, et de préférence, dès les premiers stades larvaires.

7.1.4.3.2 *Culiseta* spp. dans divers plans d'eau (sauf les pneus usés et les puisards)

Un test réalisé dans l'État de Washington a permis d'évaluer l'efficacité du VectoLex WDG contre les larves de *Culiseta incidens* dans les étangs artificiels. Le produit a été utilisé à des concentrations variant de 0,056 à 0,112 kg/ha contre une population mixte d'espèces de *Culex* et *Culiseta incidens*. On a obtenu une réduction du nombre de larves supérieure à 90 % qui a duré trois semaines à une dose d'application de 0,112 kg/ha. La concentration de 0,056 kg/ha n'a pas donné d'aussi bons résultats. Le VectoLex WDG n'a fait l'objet que d'un seul essai sur les *Culiseta* spp., mais les essais du VectoLex CG contre les espèces de ce genre ont été plus nombreux. Sept essais réalisés en parallèle afin de comparer l'efficacité du VectoLex CG à celle du VectoLex WDG ont montré qu'il y avait équivalence biologique entre les deux formulations. L'allégation d'efficacité antiparasitaire du VectoLex WDG contre toutes les espèces du genre *Culiseta* est étayée par les données fournies et par l'extrapolation des données présentées à l'appui de l'homologation du VectoLex CG.

L'allégation d'efficacité antiparasitaire du produit utilisé contre les espèces du genre *Culiseta* à raison de 0,56 à 1,68 kg/ha, la concentration supérieure étant requise dans les sites où l'eau contient beaucoup de matières en suspension, est jugée acceptable.

7.1.4.3.3 *Aedes* spp. dans divers plans d'eau (sauf les pneus usés et les puisards)

Aedes vexans : Un essai réalisé en Colombie-Britannique a permis d'évaluer l'efficacité du VectoLex CG contre les larves d'*Aedes vexans* dans une rivière en crue. Le produit a été appliqué par épandages terrestres, à raison de 0,5 kg/ha; il a conduit à une réduction du nombre de larves de 94 %, deux jours après le traitement. Aucune mesure n'a été effectuée au-delà de cette période.

Aedes (Ochlerotatus) nigromaculis : Un essai réalisé en Oregon a permis d'évaluer l'efficacité du VectoLex WDG contre les larves d'*Aedes (Ochlerotatus) nigromaculis* dans un pâturage inondé. Le produit a été appliqué par pulvérisations terrestres à raison de 0,56 et 1,12 kg/ha. Son efficacité a été mesurée au cours des 14 jours suivants. On n'a observé une réduction du nombre de larves supérieure à 90 % que deux jours après le traitement, aux deux doses testées.

Aedes cinereus, *Aedes (Ochlerotatus) triseriatus*, *Aedes (Ochlerotatus) dorsalis*, *Aedes (Ochlerotatus) melanimon*, *Aedes (Ochlerotatus) stimulans* et *Aedes (Ochlerotatus) trivittatus* : Aucune donnée d'efficacité n'a été fournie.

Les données fournies concernant l'efficacité du produit contre les larves des espèces du genre *Aedes* sont très limitées. Sept essais comparatifs réalisés en parallèle ont démontré l'équivalence biologique du VectoLex WDG et du VectoLex CG. Le projet d'allégation d'efficacité antiparasitaire du VectoLex WDG contre *Aedes vexans*, accompagné d'un énoncé indiquant que le produit donne des résultats variables contre les autres espèces des genres *Aedes* et *Ochlerotatus*, est étayé par l'extrapolation des résultats des essais réalisés sur le VectoLex CG.

7.1.5 Volume total de pulvérisation

Le VectoLex CG et le VectoLex WSP doivent être appliqués sans dilution ni mélange, alors que le VectoLex WDG est conçu pour être dilué dans l'eau. Trois tests réalisés avec le VectoLex WDG ont permis de comparer l'efficacité de dilutions faibles ou élevées, utilisées en pulvérisations terrestres (28 ou 56 L/ha et 56 ou 112 L/ha) ou aériennes (9,3 ou 28 L). Les résultats suggèrent que le volume d'eau utilisé n'influe pas sur l'efficacité du VectoLex WDG.

Les volumes d'eau proposés, soit de 10 à 200 L pour les pulvérisations terrestres classiques et de 5 à 90 L pour les pulvérisations aériennes, sont acceptables.

7.2 Toxicité pour les plantes ou les produits d'origine végétale ciblés

Aucune donnée spécifique concernant les effets de BspH sur les plantes ni aucune étude sur la phytotoxicité n'a été présentée. Le BspH est un organisme d'origine naturelle reconnu pour sa sélectivité contre les moustiques. On ne s'attend à aucun effet néfaste de cet agent microbien sur les plantes ni sur les animaux non ciblés, et aucun effet n'a été observé sur la flore des États-Unis depuis la commercialisation des produits VectoLex en 1995, ni dans aucun autre pays où le BspH sert à la lutte contre les moustiques.

7.3 Incidences sur les cultures subséquentes, les cultures adjacentes ainsi que sur les végétaux ou les produits d'origine végétale traités utilisés à des fins de multiplication

7.3.1 Incidences sur les cultures adjacentes

Aucun effet néfaste n'est prévu sur la flore ni sur les animaux non ciblés, et aucun n'a été observé sur les cultures aux États-Unis depuis la commercialisation des produits VectoLex en 1995 ni dans les autres pays du monde où le BspH sert à la lutte contre les moustiques.

7.3.2 Recommandations relatives au mélange en cuve

Le VectoLex WSP, le VectoLex CG et le VectoLex WDG sont conçus pour être utilisés seuls, sans être mélangés en cuve avec d'autres produits.

7.4 Aspects économiques

Le volet « santé publique » des mesures de lutte contre les moustiques vise à empêcher la reproduction des espèces de moustiques qui transmettent des maladies aux humains. Au Canada, les efforts actuellement déployés dans ce domaine ont principalement pour but d'empêcher l'établissement du virus du Nil occidental et d'en limiter les incidences. Le virus du Nil est propagé par des moustiques qui se nourrissent du sang d'oiseaux infectés.

On a démontré qu'un certain nombre d'espèces de moustiques vecteurs du virus, comme le *Culex pipiens*, sont sensibles au Bsph. On prévoit en outre que l'utilisation des produits VectoLex permettra de réduire l'utilisation inconsiderée de larvicides chimiques pour lutter contre les moustiques dans les habitats aquatiques fragiles.

7.5 Pérennité

7.5.1 Recensement des solutions de rechange

On peut lutter contre les larves de moustiques à l'aide de larvicides, mais il existe d'autres solutions plus efficaces et plus économiques, comme par exemple la gestion des eaux et la réduction à la source (drainage amélioré, remblayage et nivelage des terrains bas, assainissement, modification des habitats et élimination des habitats propices au développement des larves), qui permettent d'assurer une réduction durable des populations de moustiques. Les ennemis naturels des moustiques (prédateurs et pathogènes) sont d'autres alliés importants dans la lutte contre les larves de moustiques. Le recours aux larvicides ne sera envisagé que dans les cas où les méthodes de rechange se révèlent inefficaces ou inadéquates.

Voici une liste partielle des principaux larvicides chimiques et biologiques de rechange actuellement homologués au Canada pour la lutte contre les moustiques :

Larvicides de rechange pour la lutte contre les moustiques

Matière active de qualité technique	Préparation commerciale		Classe d'insecticide		Catégorie d'utilisation	Dose d'application (m.a./ha)
	Nom	Classe	Groupe	Mode d'action		
Malathion	Fyfanon 50 % EC	C	1B	Par contact, estomac et appareil respiratoire	Eaux stagnantes	550 g/ha
	Malathion 500 E	C	1B		Eaux stagnantes	550 g/ha
Malathion	Gardex Malathion ULV Concentrate	C	1B	Par contact, estomac et appareil respiratoire	Habitats des larves de moustiques	404-522,5 ml/ha
	Wilson Malathion EC	C	1B		Étangs de pisciculture, petits étangs fermiers ou étangs artificiels	0,55 L/ha
	Wilson Malathion ULV Insecticide Concentrate	C+R	1B		Habitats de larves de moustiques	261-404 ml/ha

Matière active de qualité technique	Préparation commerciale		Classe d'insecticide		Catégorie d'utilisation	Dose d'application (m.a./ha)
	Nom	Classe	Groupe	Mode d'action		
Diflubenzuron	Dimilin	R	15	Régulateur de croissance	Zones non cultivées contenant des étangs temporaires	27,5-47,5 g/ha
Chlorpyrifos	Dursban Turf Insecticide	C	1B	Par contact, estomac et appareil respiratoire	Étangs temporaires (p. ex. légères dépressions herbeuses, boisés inondés, parcs industriels, fossés, gares de triage, petits bourniers temporaires)	13-53 g/ha
	Dursban 2 ½ G	R	1B		Étangs temporaires. Ne pas utiliser dans les plans d'eau permanents (lacs, étangs artificiels ou étangs de pisciculture)	28-46,25 g/ha
	Dursban T	C	1B		Étangs temporaires. Ne pas utiliser dans les plans d'eau permanents (lacs, étangs artificiels ou étangs de pisciculture)	13-106 g/ha
Méthoprène	Altosid XR Briquets	R	7B	Régulateur de croissance	Égouts pluviaux et puisards	1-4 briquettes (0,756-3,024 g m.a./puisard)
	Altosid Pellets	R	7B		Eaux de crue Plans d'eau permanents	0,119-0,476 kg/ha 0,238-0,476 kg/ha
	Altosid Granules	R	7B		Eaux de crue Eaux stagnantes	84-168 g/ha 168-336 g/ha

Matière active de qualité technique	Préparation commerciale		Classe d'insecticide		Catégorie d'utilisation	Dose d'application (m.a./ha)
	Nom	Classe	Groupe	Mode d'action		
<i>Bacillus thuringiensis israelensis</i>	Aquabac II xt	R	11A1	Insecticide d'ingestion	Eaux de crue, fossés de routes, fossés d'irrigation, étangs sylvestres, étangs de fonte des neiges	0,384-0,768 milliard d'UTI/ha
					Eaux de marée, marais salés, puisards de rue, bassins de retenue des eaux pluviales	0,76-1,536 milliard d'UTI/ha
					Eaux polluées (bassins de stabilisation, etc.)	1.536-3,072 milliards d'UTI/ha
	Aquabac II xt	C	11A1	Eaux de crue, fossés de routes, fossés d'irrigation, étangs sylvestres, étangs de fonte des neiges	0,384-0,768 milliard d'UTI/ha	
				Eaux de marée, marais salés, puisards, bassins de retenue des eaux pluviales	0,768-1,536 milliard d'UTI/ha	
				Eaux polluées (bassins de stabilisation, etc.)	1,536-3,072 milliards d'UTI/ha	
<i>Bacillus thuringiensis israelensis</i>	Aquabac (200G) Granules (5/8)	C	11A1	Insecticide d'ingestion	Eaux de crue, fossés de routes, fossés d'irrigation, étangs sylvestres, étangs de fonte des neiges, eaux de marée, marais salés, puisards, bassins de retenue des eaux pluviales	0,5-4 milliards d'UTI/ha
	AquaBac (200G) Granules (10/14)	D	11A1		Eaux stagnantes entièrement comprises dans les limites de la propriété	1 milliard d'UTI/ha

Matière active de qualité technique	Préparation commerciale		Classe d'insecticide		Catégorie d'utilisation	Dose d'application (m.a./ha)
	Nom	Classe	Groupe	Mode d'action		
	VectoBac 200G	C	11A1		Eaux stagnantes : étangs temporaires ou permanents dans des pâturages ou des boisés, fossés de routes ou fossés d'irrigation, marais naturels, zones estuariennes, plans d'eau voisins d'eaux poissonneuses, puisards et bassins de stabilisation des eaux usées	0,6-2 milliards d'UTI/ha
	VectoBac 200G	R	11A1		Même chose que ci-dessus	Même chose que ci-dessus
	VectoBac 1200L Aqueous Suspension	R	11A1		Étangs temporaires dans des pâturages ou des boisés, fossés de routes ou fossés d'irrigation, marais naturels, zones estuariennes, puisards et bassins de stabilisation des eaux usées	0,3-1,2 milliard d'UTI/ha
	Teknar [®] Granules	R	11A1		Eaux de crue, pâturages, étangs et fossés d'eaux stagnantes Eaux de marée, marais salés, puisards de rue, bassins de retenue des eaux pluviales Eaux polluées d'eaux usées, chargées d'une quantité modérée de matières organiques ou d'une concentration élevée de matières en suspension	1,17-1,742 milliard d'unités toxiques <i>Aedes aegypti</i> (UAA)/ha 1,456-1,742 milliard d'UAA/ha 1,742 milliard d'UAA/ha

Matière active de qualité technique	Préparation commerciale		Classe d'insecticide		Catégorie d'utilisation	Dose d'application (m.a./ha)
	Nom	Classe	Groupe	Mode d'action		
	Teknar [®] HP-D	R	11A1		Eaux de crue, pâturages, étangs et fossés d'eaux stagnantes	0,9-1,8 milliard d'UAA/ha
					Eaux de marée, marais salés, puisards de rue, bassins de retenue des eaux pluviales	1,8-3,6 milliards d'UAA/ha
					Eaux polluées d'eaux usées, chargées d'une quantité modérée de matières organiques ou d'une concentration élevée de matières en suspension	3,6 milliards d'UAA/ha

7.5.2 Compatibilité avec les pratiques de lutte actuelles, y compris la lutte intégrée

Les produits VectoLex WSP, VectoLex CG et VectoLex WDG sont compatibles avec les pratiques courantes de lutte contre les moustiques et pourraient permettre de réduire l'utilisation de larvicides chimiques dans les habitats aquatiques ou les remplacer complètement. Les toxines de Bsph sont reconnues pour leur spécificité d'hôte, et leurs effets sur les ennemis naturels des moustiques devraient être minimes.

Les programmes actuels de lutte contre les moustiques comprennent la surveillance des sites de développement larvaire, une précaution essentielle pour assurer l'efficacité optimale des produits VectoLex WSP, VectoLex CG et VectoLex WDG aux stades de développement sensibles des moustiques.

7.5.3 Contribution à la réduction des risques

On prévoit que les produits VectoLex WSP, VectoLex CG et VectoLex WDG serviront à la lutte contre les larves de moustiques dans divers types d'habitats aquatiques, notamment dans les habitats fragiles. Ces produits sont particulièrement efficaces contre les espèces du genre *Culex* et pourront remplacer les produits à base de *Bacillus thuringiensis israelensis* (Bti), moins actifs contre ces espèces. Les produits VectoLex WSP, VectoLex CG et VectoLex WDG se sont montrés plus efficaces et

présentent une action résiduelle plus durable que les produits à base de Bti dans les sites à forte teneur en matières en suspension. Ils pourraient donc contribuer à restreindre l'emploi des larvicides chimiques, en atténuant les risques d'acquisition d'une résistance aux pesticides et en réduisant les effets sur les travailleurs et l'environnement.

7.5.4 Renseignements sur la fréquence observée ou possible d'acquisition de résistance

Il a été démontré que les larves de moustiques sont capables d'acquérir une résistance aux larvicides chimiques. Bsph, tout comme Bti, est un insecticide d'ingestion dont le mode d'action diffère de celui des larvicides chimiques. Certains faits suggèrent que les toxines du Bsph ont un mode d'action différent des toxines du Bti. Ainsi, les produits VectoLex WSP, VectoLex CG et VectoLex WDG pourront servir de solution de rechange en lutte biologique. Certaines larves de moustiques résistent à Bsph dans les pays tropicaux, mais l'existence d'une telle résistance n'a pas été démontrée en Amérique du Nord. Pour retarder ou éviter ce phénomène, le demandeur a inscrit, sur l'étiquette, des recommandations quant à la gestion de la résistance conformes à la directive d'homologation [DIR99-06](#) de l'ARLA intitulée *Étiquetage en vue de la gestion de la résistance aux pesticides, compte tenu du site ou du mode d'action des pesticides*. On suggère également d'inscrire, sur l'aire d'affichage principale de l'étiquette, les indications suivantes :

GROUPE	11A2	INSECTICIDE
--------	------	-------------

7.6 Conclusions

VectoLex WSP

Selon les données fournies, ce produit est efficace pour la lutte contre les larves de moustiques appartenant aux genres *Culex* et *Culiseta* présentes dans les puisards, lorsqu'utilisé à la dose proposée d'un sachet par puisard. Le traitement peut être répété à intervalles d'au moins une semaine si les résultats des échantillonnages de larves le justifient.

VectoLex CG

Selon les données fournies, ce produit est efficace pour la lutte contre les larves de moustiques des genres *Culex* et *Culiseta* et contre les larves d'*Aedes vexans* présentes dans divers habitats aquatiques lorsqu'employé aux concentrations proposées de 5,6 à 16,8 kg de produit/ha. Les autres espèces d'*Aedes* et d'*Ochlerotatus* ont montré des taux de sensibilité variables au VectoLex CG. Les données fournies confirment l'efficacité de ce produit contre les larves présentes dans les pneus usés, à la condition que les pneus soient traités individuellement. Les concentrations acceptables varient de 0,56 à 1,68 g de produit/m² de surface d'eau. Selon les données, il convient d'utiliser la dose supérieure lorsque l'eau traitée contient beaucoup de matières en suspension. On peut répéter le traitement à intervalles d'au moins une semaine si les résultats des échantillonnages de larves le justifient.

VectoLex WDG

Selon les données fournies, ce produit est efficace pour la lutte contre les larves des genres *Culex* et *Culiseta* et contre les larves d'*Aedes vexans* présentes dans divers habitats aquatiques lorsqu'utilisé aux doses d'application proposées de 0,56 à 1,68 kg de produit/ha. Les autres espèces d'*Aedes* et d'*Ochlerotatus* ont montré des taux de sensibilité variables au VectoLex WDG. Selon les données, il convient d'utiliser la dose supérieure lorsque l'eau traitée contient beaucoup de matières en suspension. On peut répéter le traitement à intervalles d'au moins une semaine si les résultats des échantillonnages de larves le justifient.

7.6.1 Résumé

Résumé des recommandations et des propositions visant l'étiquette du VectoLex WSP

Mode d'emploi	Proposition	Recommandation (fondée sur l'appréciation de la valeur)	Commentaires
Période d'application	Pendant la période de développement larvaire.	Idem	Ajouter sur l'étiquette la précision suivante : « Appliquer dans les puisards lorsque les échantillonnages indiquent la présence de larves. »
Nombre d'applications et intervalles	Aucune limite. Traiter à nouveau après 1 à 4 semaines.	Aucune limite. Traiter à nouveau à intervalles d'au moins une semaine.	Les données indiquent que l'efficacité résiduelle persiste de 2 à 15 semaines.
Méthode d'épandage	À la main.	Idem	Ajouter sur l'étiquette la précision suivante : « Déposer les sachets à la main au centre du puisard. »
Catégorie d'utilisation	Puisards	Idem	
Espèces de moustiques	<i>Culex pipiens</i> , <i>Culex restuans</i> , <i>Culiseta incidens</i> et <i>Culiseta inornata</i>	<i>Culex</i> spp. et <i>Culiseta</i> spp.	Les données fournies et la biologie des moustiques servent à étayer l'allégation d'efficacité antiparasitaire contre toutes les espèces des genres <i>Culex</i> et <i>Culiseta</i> .
Volume de pulvérisation	—	—	Sans objet. Le produit n'est pas dilué.

Résumé des recommandations et des propositions visant l'étiquette du VectoLex CG

Mode d'emploi	Proposition	Recommandation (fondée sur l'appréciation de la valeur)	Commentaires
Période d'application	Pendant la période de développement larvaire.	Idem	Ajouter sur l'étiquette la précision suivante : « Appliquer sur les sites de reproduction lorsque les échantillonnages indiquent la présence de larves de moustiques. »
Nombre d'applications et intervalles	Aucune limite. Traiter à nouveau après 1 à 4 semaines.	Aucune limite. Traiter à nouveau à intervalles d'au moins une semaine.	Les données indiquent que l'efficacité résiduelle persiste de 1 à 7 semaines.
Méthode d'épandage	Épandages terrestres et aériens	Idem	Les données fournies confirment l'efficacité des 2 méthodes. Pneus usés : appliquer à la main dans chaque pneu.
Catégorie d'utilisation	<p>Plans d'eau 5,6-16,8 kg/ha : marais d'eau douce et d'eau salée, plaines inondables, champs et pâturages inondés, terrains humides, étangs, bassins de retenue et de filtration d'eaux pluviales, effluents d'eaux usées, bassins ou étangs de stabilisation des eaux usées, bassins de flottage, eaux usées closes, tranchées de drainage et d'épuration, y compris égouts à ciel ouvert et tranchées d'irrigation.</p> <p>Pneus usés 0,376 g/pneu : uniquement pour l'application directe du produit dans chaque pneu.</p>	<p>Marais d'eau douce et d'eau salée, plaines inondables, champs et pâturages inondés, terrains humides, étangs, bassins de retenue et de filtration d'eaux pluviales, effluents d'eaux usées, bassins ou étangs de stabilisation des eaux usées, bassins de flottage, eaux usées closes, tranchées d'épuration, tranchées de drainage, y compris égouts à ciel ouvert et tranchées d'irrigation.</p> <p>Pneus usés, seulement si chaque pneu est traité séparément.</p>	<p>Les données soumises ont démontré que les doses d'application de 5,6-16,8 kg/ha sont efficaces contre les larves de moustiques dans les sites aquatiques testés. La concentration la plus élevée est nécessaire dans les eaux polluées d'eaux usées ou qui contiennent beaucoup de matières organiques ou de matières solides en suspension.</p> <p>Les données confirment l'efficacité d'une dose d'application de 0,56-1,68 g/m² de surface d'eau. La concentration la plus élevée est nécessaire dans les eaux qui contiennent beaucoup de matières organiques ou de matières solides en suspension.</p>

Mode d'emploi	Proposition	Recommandation (fondée sur l'appréciation de la valeur)	Commentaires
Espèces de moustiques	<i>Culex</i> spp., <i>Aedes vexans</i> , <i>Aedes cinereus</i> , <i>Aedes (Ochlerotatus) triseriatus</i> , <i>Aedes (Ochlerotatus) dorsalis</i> , <i>Aedes (Ochlerotatus) melanimon</i> , <i>Aedes (Ochlerotatus) nigromaculis</i> , <i>Aedes (Ochlerotatus) stimulans</i> , <i>Aedes (Ochlerotatus) trivittatus</i> , <i>Culiseta incidens</i> , <i>Culiseta inornata</i>	<i>Culex</i> spp., <i>Culiseta</i> spp., <i>Aedes vexans</i> (les autres espèces d' <i>Aedes</i> et d' <i>Ochlerotatus</i> présentent des degrés variables de sensibilité au VectoLex CG).	Les données fournies ont permis d'étayer l'allégation d'efficacité antiparasitaire contre <i>Culex</i> spp., <i>Culiseta</i> spp., <i>Aedes vexans</i> et les autres espèces d' <i>Aedes</i> et d' <i>Ochlerotatus</i> qui présentent des degrés variables de sensibilité au VectoLex CG.
Volume de pulvérisation	—	—	Sans objet. Le produit n'est pas dilué.

Résumé des recommandations et des propositions visant l'étiquette du VectoLex WDG

Mode d'emploi	Proposition	Recommandation (fondée sur l'appréciation de la valeur)	Commentaires
Période d'application	Pendant la période de développement larvaire.	Idem	Ajouter sur l'étiquette la précision suivante : « Appliquer sur les sites de reproduction lorsque les échantillonnages indiquent la présence de larves de moustiques. »
Nombre d'applications et intervalles	Aucune limite. Traiter à nouveau après 1 à 4 semaines.	Aucune limite. Traiter à nouveau à intervalles d'au moins 1 semaine.	Les données indiquent que l'efficacité résiduelle persiste pendant 1 à 7 semaines.
Méthode d'épandage	Pulvérisation terrestre ou aérienne.	Idem	Les données fournies confirment l'efficacité des 2 méthodes.

Mode d'emploi	Proposition	Recommandation (fondée sur l'appréciation de la valeur)	Commentaires
Catégorie d'utilisation	Plans d'eau 0,55-1,7 kg/ha : marais d'eau douce et d'eau salée, plaines inondables, champs et pâturages inondés, terrains humides, étangs, bassins de retenue et de filtration d'eaux pluviales, effluents d'eaux usées, bassins et étangs de stabilisation des eaux usées, bassins de flottage, eaux usées closes, tranchées de drainage et d'épuration, y compris égouts à ciel ouvert et tranchées d'irrigation.	Idem	Les données soumises ont démontré que les doses d'application de 0,56-1,68 kg/ha sont efficaces contre les larves de moustiques dans les sites aquatiques testés. La concentration la plus élevée est nécessaire dans les eaux polluées d'eaux usées ou qui contiennent beaucoup de matières organiques ou de matières solides en suspension.
Espèces de moustiques	<i>Culex</i> spp., <i>Aedes vexans</i> , <i>Aedes cinereus</i> , <i>Aedes (Ochlerotatus) triseriatus</i> , <i>Aedes (Ochlerotatus) dorsalis</i> , <i>Aedes (Ochlerotatus) melanimon</i> , <i>Aedes (Ochlerotatus) nigromaculis</i> , <i>Aedes (Ochlerotatus) stimulans</i> , <i>Aedes (Ochlerotatus) trivittatus</i> , <i>Culiseta incidens</i> , <i>Culiseta inornata</i>	<i>Culex</i> spp., <i>Culiseta</i> spp., <i>Aedes vexans</i> (les autres espèces d' <i>Aedes</i> et d' <i>Ochlerotatus</i> présentent des degrés variables de sensibilité au VectoLex WDG).	Les données fournies ont permis d'étayer l'allégation d'efficacité antiparasitaire contre <i>Culex</i> spp., <i>Culiseta</i> spp., <i>Aedes vexans</i> et les autres espèces d' <i>Aedes</i> et d' <i>Ochlerotatus</i> qui présentent des degrés variables de sensibilité au VectoLex WDG.
Volume de pulvérisation	Pulvérisation terrestre Diluer le produit dans 10-200 L d'eau. Pulvérisation aérienne Diluer le produit pour obtenir une bouillie de pulvérisation de 5-90 L.	Idem	Ajouter sur l'étiquette la précision suivante : « Pour des instructions détaillées, consulter le mode d'emploi »

8.0 Considérations relatives à la Politique de gestion des substances toxiques

La souche 2362 de Bsph, qui constitue la matière active microbienne des produits VectoLex WDG, VectoLex CG et VectoLex WSP, ne satisfait pas aux critères de la voie 1 de la PGST puisqu'il s'agit d'un organisme vivant qui n'est pas assujéti aux critères utilisés pour définir les propriétés de persistance, de bioaccumulation et de toxicité des produits antiparasitaires chimiques. Par ailleurs, il n'existe dans les PC aucun produit de formulation, aucun contaminant ni aucune impureté pouvant satisfaire aux critères de la voie 1 de la PGST.

9.0 Décision réglementaire

L'ARLA a procédé à l'évaluation des renseignements disponibles et les a jugés suffisants, aux termes du RPA, pour en déterminer l'innocuité, les avantages et la valeur. Elle a conclu que l'utilisation du biopesticide microbien *Bacillus sphaericus* de souche 2362 et de ses préparations commerciales VectoLex WSP, VectoLex CG et VectoLex WDG pour lutter contre les larves de moustiques dans divers habitats aquatiques présente des qualités et une valeur conformes au RPA sans entraîner de risque inacceptable. Pour ces raisons, l'ARLA a accordé, en vertu du RPA, une homologation temporaire au Bsph et à ses PC, à la condition de fournir les données de confirmation suivantes :

- Un bio-essai sur les lépidoptères et les coléoptères;
- Une étude de la toxicité et de l'infectiosité du produit pour un bivalve dulçaquicole.

Liste des abréviations

°C	degré Celsius
AMLA	agent microbien de lutte antiparasitaire
ARLA	Agence de réglementation de la lutte antiparasitaire
Bsph	<i>Bacillus sphaericus</i>
Bti	<i>Bacillus thuringiensis israelensis</i>
Btx	toxine binaire
CD	caesarean-derived (fœtus extrait par césarienne)
CE ₅₀	concentration efficace à 50 %
CFU	cellule souche unipotente
cm	centimètre
CL ₅₀	concentration létale à 50 %
COD	carbone organique dissous
CPE	concentration prévue dans l'environnement
CSEO	concentration sans effet observé
CU	catégorie d'utilisation
DAMM	diamètre aérodynamique moyen en masse
DL ₅₀	dose létale à 50 %
DMENO	dose minimale entraînant un effet nocif observé
DSENO	dose sans effet nocif observé
EPA	United States Environmental Protection Agency
É.-T.	écart-type géométrique
g	gramme
h	heure
ha	hectare
i.v.	intraveineux
kDa	kilodalton
kg	kilogramme
L	litre
LMR	limite maximale de résidus
m ²	mètre carré
m.a.	matière active
MAQT	matière active de qualité technique
mg	milligramme
ml	millilitre
Mtx	toxine insecticide anti-moustique
MSH/NIOSH	Mine Safety and Health Administration/National Institute for Occupational Safety and Health
NZB	Néo-Zélandais blanc (lapin)
p.c.	poids corporel
PC	préparation commerciale
PGST	Politique de gestion des substances toxiques
RPA	<i>Règlement sur les produits antiparasitaires</i>
sem.	semaine
UAA	unité toxique <i>Aedes aegypti</i>
µm	micromètre
UTI-Bs	unités toxiques internationales de <i>Bacillus sphaericus</i>

Annexe I Toxicologie

Tableau 1 Sommaire des études de toxicité et d'infectiosité pour la VectoLex Technical Powder et les produits VectoLex WDG, VectoLex CG et VectoLex WSP

ÉTUDE	ESPÈCE, SOUCHE ET DOSE	DL ₅₀ , DSENO ET DMENO	ORGANE CIBLE, EFFETS IMPORTANTS ET COMMENTAIRES
ÉTUDES DE TOXICITÉ AIGUË			
VectoLex Technical Powder			
Toxicité et pathogénicité par voie orale	<p>Rats - Caesarean-derived (CD)</p> <p>- 7 par sexe traités avec la MAQT (SVE¹) diluée dans l'eau distillée, 5 g/kg p.c. ou $\sim 2,8 \times 10^{10}$ CFU/kg p.c. (mesurée), gavage</p> <p>- 7 par sexe traités avec la MAQT inactivée par la chaleur (SME²), 5 g/kg p.c., gavage</p>	<p>DL₅₀ supérieure à 5 g/kg p.c., ou $2,8 \times 10^{10}$ CFU/kg de poids corporel (p.c.)</p>	<p>- Une des 7 femelles SVE et une des 7 femelles SME trouvées mortes au jour 2. À l'autopsie, les deux présentent un œsophage déchiré et du liquide brun pâle dans la cavité thoracique. Ces décès ont été attribués à une erreur de gavage.</p> <p>- Une des 7 femelles SVE trouvée morte au jour 6. Cette femelle a été hypoactive du jour 1 jusqu'à sa mort; son abdomen était également mouillé d'urine. À l'autopsie, présence d'une substance claire, foncée ou rouge dans la cavité thoracique, l'estomac, le cæcum, l'intestin grêle et le gros intestin, mais pas de perforation de l'œsophage.</p> <p>- Un des 7 mâles SME présente une hypertrophie de la rate au moment d'être sacrifié, au jour 7. On a jugé qu'il s'agissait d'une réaction immunologique normale.</p> <p>- Des colonies ont été récupérées à partir de tous les tissus, de l'urine et des excréments des animaux SVE et SME. Les résultats obtenus sont jugés douteux puisque le milieu de récupération utilisé pour les essais d'élimination n'était pas sélectif et ne permettait donc pas de distinguer les micro-organismes contaminants des tissus non stériles comme l'urine et les excréments. Par ailleurs, l'échantillonnage était arbitraire et variable. Les dénombrements ont été réalisés à partir d'échantillons recueillis à l'aide d'une anse de repiquage stérile, plutôt qu'à partir de la culture sur boîte de Pétri d'un volume connu d'échantillons homogénéisés. La procédure d'inactivation par la chaleur n'a pas détruit les spores, même si elle devrait suffire à détruire ce micro-organisme. Aucun profil d'élimination n'a pu être déterminé.</p> <p>DONNÉES SUPPLÉMENTAIRES REQUISES, aucun profil d'élimination n'ayant pu être déterminé.</p>

ÉTUDE	ESPÈCE, SOUCHE ET DOSE	DL ₅₀ , DSENO ET DMENO	ORGANE CIBLE, EFFETS IMPORTANTS ET COMMENTAIRES
ÉTUDES DE TOXICITÉ AIGÜÈ			
Toxicité et pathogénicité par voie orale	Rats - Sprague-Dawley - 15 par sexe traités avec la MAQT en solution salée, ~ 3 × 10 ⁸ CFU/animal (mesurée), gavage - 15 par sexe traités avec solution salée	DL ₅₀ supérieure à 3 × 10 ⁸ CFU/animal	- Aucune mort - Aucun signe de toxicité - Aucune lésion observée à l'autopsie - Les colonies de BspH ont été récupérées à partir des excréments et des poumons des animaux traités. La présence du bacille dans les poumons est vraisemblablement due à une erreur de dosage ou à l'aspiration accidentelle du matériel de gavage. FAIBLEMENT TOXIQUE, NON PATHOGÈNE ACCEPTABLE
Toxicité et pathogénicité par inhalation	Rats - CD - 5 par sexe traités avec la MAQT (dose nominale : 4 × 10 ¹⁰ CFU/g), 4 heures, organisme entier - 0,09 mg/L, Diamètre aérodynamique moyen en masse (DAMM) = 8631 µm, Écart-type géométrique (É.-T.G.) = 432	Concentration létale à 50 % (CL ₅₀) supérieure à 0,09 mg/L ou 3,6 × 10 ⁶ CFU/L	- Aucune mort - Aucun signe de toxicité - À l'autopsie, un des 5 mâles présente de multiples foyers rouges sur les poumons. Un des 5 mâles présente des décolorations diffuses sur les poumons. Ces réactions sont vraisemblablement dues à des réactions immunologiques normales en présence d'antigènes étrangers tels que les spores du BspH. - Récupération sporadique et irrégulière de BspH signalée. Aucun profil distinct d'élimination du micro-organisme n'a pu être déterminé. DONNÉES SUPPLÉMENTAIRES REQUISES, aucun profil d'élimination n'ayant pu être déterminé et la dose étant très faible.
Toxicité et pathogénicité par inhalation	Rats - Sprague-Dawley - 17 par sexe traités avec la MAQT en solution salée, 5,6 × 10 ⁸ CFU/animal (mesurée) ou 0,04 ml/animal, intratrachéal - 17 par sexe traités avec solution salée, 0,04 ml/animal, intratrachéal	DL ₅₀ supérieure à 5,6 × 10 ⁸ CFU/animal	- Aucune mort - Aucun signe de toxicité - Décolorations (marbrures, foyers) observées sur les poumons de 10 des 17 mâles et de 12 des 17 femelles. - Colonies de BspH récupérées des poumons, du foie et de la rate. Profil d'élimination du micro-organisme établi au jour 49. FAIBLEMENT TOXIQUE, NON PATHOGÈNE, ACCEPTABLE

ÉTUDE	ESPÈCE, SOUCHE ET DOSE	DL ₅₀ , DSENO ET DMENO	ORGANE CIBLE, EFFETS IMPORTANTS ET COMMENTAIRES
ÉTUDES DE TOXICITÉ AIGUË			
Infectiosité par voie i.v.	<p>Souris - CD1, fraîchement sevrées</p> <p>- 20 par sexe traitées avec la MAQT en solution salée (SVE), 6×10^7 CFU/animal (mesurée) ou 0,05 ml</p> <p>- 20 par sexe traitées avec la MAQT en solution salée, 6×10^7 CFU/animal (mesurée) ou 0,05 ml, immunodéprimées à l'acétate de cortisone (SVEI³)</p> <p>- 5 par sexe traitées avec la MAQT inactivée par la chaleur, en solution salée (SME), 0,05 ml</p> <p>- 5 par sexe traitées avec la MAQT inactivée par la chaleur, en solution salée, 0,05 ml, immunodéprimées à l'acétate de cortisone (SMEI⁴)</p>	<p>DL₅₀ supérieure à 6×10^7 CFU/animal</p>	<p>- Sept des 20 mâles SVE et 3 des 20 femelles SVE morts aux jours 0 à 4.</p> <p>- Un des 5 mâles SME et une des 5 femelles SME morts au jour 1.</p> <p>- Une des 5 femelles SMEI morte au jour 1.</p> <p>- Les signes cliniques observés comprennent l'hypoactivité (17/40 SVE, 7/40 SVEI, 3/10 SME, 4/10 SMEI); la respiration laborieuse (3/40 SVE); l'abdomen mouillé d'urine (2/40 SVE, 1/40 SVEI), la pâleur (1/40 SVE, 1/40 SVEI); l'ataxie (3/40 SVE); l'inclinaison de la tête (1/40 SVE), le tournoiement (1/40 SVE); la diarrhée (2/40 SVE, 1/10 SMEI); la prostration (1/40 SVE); les convulsions (1/40 SVE); le noircissement de la queue (4/40 SVE, 3/40 SVEI); la perte du bout de la queue (3/40 SVE, 3/40 SVEI); et la perte de l'usage des membres postérieurs (1/40 SVE). Les effets observés sur la queue ont été attribués au traumatisme causé par les injections dans la veine caudale.</p> <p>- Les signes observés à l'autopsie comprenaient l'atrophie de la rate (1/40 SVEI); l'hypertrophie de la rate (13/40 SVE, 18/40 SVEI); un contenu intestinal gélatineux et foncé (1/40 SVE); des poumons pâles (1/40 SVEI); la présence d'une substance gélatineuse foncée à la surface du cerveau (1/40 SVE); et l'hypertrophie des cornes utérines (1/20 SVE, 2/20 SVEI, 1/5 SME).</p> <p>- On n'a pas indiqué le moment des observations cliniques ni des autopsies. Les souris atteintes n'ont pas non plus été identifiées. Ces observations pourraient provenir de souris mortes ou moribondes.</p> <p>- Des colonies de BspH ont été récupérées du sang, du cerveau, des poumons, du foie et de la rate des souris traitées avec la substance d'essai (SVE, SVEI). Aucun profil distinct d'élimination du micro-organisme n'a pu être déterminé.</p> <p>DONNÉES SUPPLÉMENTAIRES REQUISES, aucun profil d'élimination du micro-organisme n'ayant pu être déterminé.</p>

ÉTUDE	ESPÈCE, SOUCHE ET DOSE	DL ₅₀ , DSENO ET DMENO	ORGANE CIBLE, EFFETS IMPORTANTS ET COMMENTAIRES
ÉTUDES DE TOXICITÉ AIGUË			
Infectiosité par voie i.v.	<p>Hamsters fraîchement sevrés</p> <p>- 20 par sexe traités avec la MAQT en solution salée (SVE), 5 x 10⁷ CFU/animal (mesurée) ou 0,05 ml</p> <p>- 20 par sexe traités avec la MAQT en solution salée, 5 x 10⁷ CFU/animal (mesuré) ou 0,05 ml, immunodéprimés à l'acétate de cortisone (SVEI)</p> <p>- 5 par sexe traités avec la MAQT inactivée par la chaleur, en solution salée (SME), 0,05 ml</p> <p>- 5 par sexe traités avec la MAQT inactivée par la chaleur, en solution salée, 0,05 ml, immunodéprimés à l'acétate de cortisone (SMEI)</p>	DL ₅₀ supérieure à 5 × 10 ⁷ CFU/animal	<p>- Une des 20 femelles SVEI qui présentait les symptômes d'une maladie spontanée a été trouvée morte au jour 22. Cette mort n'a pas été liée au traitement.</p> <p>- La femelle morte au jour 22 présentait les signes cliniques suivants : larmoiement, salivation, hypoactivité, abdomen mouillé d'urine, exsudat blanc autour des yeux et émaciation.</p> <p>- Une des 20 femelles SVEI souffrait d'exophtalmie (saillie anormale de l'œil hors de son orbite), d'un assèchement de la surface d'un œil et d'hypoactivité.</p> <p>- Au jour 28, une des 20 femelles SVE souffrait d'hypothermie; elle était prostrée et avait une respiration laborieuse. Ces effets étaient vraisemblablement dus à une baisse temporaire de la température ambiante le matin.</p> <p>-Trois des 40 animaux SVEI ont perdu du poids (chiffres non fournis).</p> <p>- À l'autopsie, on a noté une dégradation apparente de la structure dans l'œil droit d'une des femelles SVEI.</p> <p>- Des colonies de Bsph ont été récupérées du sang, du cerveau, des poumons, du foie et de la rate des souris traitées avec la substance d'essai (SVE, SVEI). Aucun profil distinct d'élimination du micro-organisme n'a pu être déterminé.</p> <p>DONNÉES SUPPLÉMENTAIRES REQUISES, aucun profil d'élimination du micro-organisme n'ayant pu être déterminé.</p>
Infectiosité par voie i.v.	<p>Rats - Sprague-Dawley, jeunes adultes</p> <p>- 17 par sexe traités avec la MAQT en solution salée, 1,4 x 10⁷ CFU/animal (mesurée) ou 0,2 ml</p> <p>- 17 par sexe traités avec solution salée, 0,2 ml</p>	DL ₅₀ supérieure à 1,4 × 10 ⁷ CFU/animal	<p>- Aucune mort</p> <p>- Aucun signe clinique</p> <p>- À l'autopsie, des décolorations ont été observées sur les poumons d'un des mâles.</p> <p>- Des colonies de Bsph ont été récupérées du foie, des poumons, de la rate, des reins, du sang, des ganglions lymphatiques et du cerveau des animaux traités. On a noté une réduction sensible des CFU au jour 49.</p> <p>NON PATHOGÈNE ACCEPTABLE</p>

ÉTUDE	ESPÈCE, SOUCHE ET DOSE	DL ₅₀ , DSENO ET DMENO	ORGANE CIBLE, EFFETS IMPORTANTS ET COMMENTAIRES
ÉTUDES DE TOXICITÉ AIGUË			
Toxicité cutanée	<p>Lapins - Néo-Zélandais blancs (NZB)</p> <p>-5 par sexe traités avec la MAQT à raison de 2 000 mg/kg p.c. ou de $2,4 \times 10^{10}$ CFU/kg p.c. (mesurée) dans 2 ml/g de solution salée sur au moins 10 % de la surface du corps, recouverte pendant 24 h, puis essuyée (pas rincée)</p> <p>- 5 par sexe non traités</p>	DL ₅₀ supérieure à 2 000 mg/kg p.c. ou à $2,4 \times 10^{10}$ CFU/kg p.c.	<p>- Aucune mort</p> <p>- Érythème modéré à grave, et œdème à peine perceptible chez tous les animaux traités. L'œdème était disparu au jour 13, mais l'érythème a persisté chez certains sujets jusqu'à la fin des essais.</p> <p>- Légère exfoliation et fendillement léger à modéré également observés aux endroits traités chez tous les mâles et chez 4 des 5 femelles.</p> <p>- Deux des 5 femelles ont perdu du poids.</p> <p>- À l'autopsie, un des mâles présentait une hypertrophie de la rate.</p> <p>- Les tests de récupération des micro-organismes n'ont pas donné de résultats concluants à cause de problèmes de contamination microbienne et de difficultés d'interprétation des données provenant d'animaux traités par voie orale avec un antibiotique pendant l'acclimatation. Les données sur la récupération des micro-organismes ne sont pas requises pour les études de la toxicité cutanée aiguë.</p> <p>FAIBLE TOXICITÉ ACCEPTABLE</p>
Irritation cutanée	<p>Lapins - NZB</p> <p>- 1 mâle et 5 femelles traités avec la MAQT à raison de 500 mg ou de $2,8 \times 10^{10}$ CFU (mesurée) dans 0,5 ml de solution salée, sur 2 sites (abrasé et intact); exposition de 24 h</p> <p>- 2 sites non traités (abrasé et intact)</p>	<p><u>Site intact</u> :</p> <p>IMI⁵ 3,08/8 (48 h après l'application) CMM⁶ 2,58/8 (48, 72 et 96 h après l'application)</p> <p><u>Site abrasé</u> :</p> <p>IMI 2,75/8 (48 h après l'application) CMM 2,67/8 (48, 72 et 96 h après l'application)</p>	<p>- Érythème très léger à modéré et œdème à peine perceptible observés dans les 24 h suivant l'application, c.-à-d. au retrait de la compresse.</p> <p>- L'érythème avait disparu sur les sites intacts et abrasés 14 jours après l'application.</p> <p>- L'œdème avait disparu 9 jours après l'application sur les sites abrasés, et 6 jours après l'application sur les sites intacts.</p> <p>- Un fendillement de la peau a été observé de 72 à 96 h après l'application sur les sites abrasés de 2 lapins, et sur les sites intacts d'un autre.</p> <p>- Au jour 13, l'un des sites abrasés ou les 2 sites abrasés de 3 lapins et les 2 sites intacts de 2 lapins étaient dénudés et luisants.</p> <p>DONNÉES SUPPLÉMENTAIRES REQUISES, étant donné la longue période d'exposition (24 h)</p>

ÉTUDE	ESPÈCE, SOUCHE ET DOSE	DL ₅₀ , DSENO ET DMENO	ORGANE CIBLE, EFFETS IMPORTANTS ET COMMENTAIRES
ÉTUDES DE TOXICITÉ AIGUË			
Irritation cutanée	Lapins- NZB - 3 par sexe traités avec 500 mg de MAQT dans 0,6 ml de solution salée (dose nominale : $1,8 \times 10^{12}$ CFU), 2,5 × 2,5 cm, 4 h	IMI 0,67/8 (1 h après le retrait de la compresse) CMM 0,5/8 (24, 48 ou 72 h après le retrait de la compresse)	- Érythème très léger à bien défini observé une heure et 24 h après le retrait de la compresse. - Oedème très léger observé sur un animal 1 h après le retrait de la compresse. - Aucune irritation cutanée observée 48 h après le retrait de la compresse. LÉGÈRE IRRITATION ACCEPTABLE
Sensibilisation cutanée	Cobayes - albinos - 10 animaux, traités avec la MAQT 0,025 % en injection intradermique (mesuré : $1,3 \times 10^{10}$ CFU/g, SVE), 3 injections/sem., total de 10 inductions - 10 animaux, traités avec la MAQT 0,025 % inactivée par la chaleur, en injection intradermique (SME), 3 injections/sem., total de 10 inductions - 4 animaux traités avec le 1-chloro-2,4-dinitrobenzène 0,1 % en injection intradermique (positif), 3 injections/sem., total de 10 inductions	SENSIBILISANT POTENTIEL	- Érythème très léger à bien défini et oedème très léger observés chez les sujets des trois groupes, après induction et injections de provocation. - Indices d'irritation cutanée légèrement supérieurs, en moyenne, à ceux observés pendant l'induction (ces résultats sont toutefois jugés équivoques). - Comme tous les micro-organismes contiennent des substances qui pourraient déclencher une réaction positive des sujets expérimentaux, tous les AMLA peuvent être considérés comme des sensibilisants potentiels. - Les études de sensibilisation cutanée ne sont pas obligatoires dans le cas des AMLA. Aucune étude de remplacement n'est requise. DONNÉES SUPPLÉMENTAIRES REQUISES
Irritation oculaire	Lapin - NZB - 6 lapins traités avec la MAQT (mesurée : $5,5 \times 10^9$ CFU/g), 100 mg, œil droit, non rincé - 3 lapins traités avec la MAQT (mesuré : $5,5 \times 10^9$ CFU/g), 100 mg, œil droit, rincé avec 20 ml d'eau du robinet	<u>Œil non rincé</u> : IMI 11,2/110 (24 h après instillation) CMM 7,2/110 (24, 48 et 72 h après instillation) <u>Œil rincé</u> : IMI 2,7/110 (24 h après instillation) CMM 2,2/110 (24, 48 et 72 h après instillation)	<u>Œil non rincé</u> : - Rougeur de la conjonctive, chémosis et écoulements observés chez la plupart des sujets. - Iris injecté observé chez un sujet. - Irritation disparue au bout de 10 jours. - Écoulements purulents observés chez 4 des 6 lapins après 24 h, et chez 2 des 6 lapins après 48 h. <u>Œil rincé</u> : - Rougeur de la conjonctive observée chez les 3 sujets. - Irritation disparue au bout de 10 jours. LÉGÈREMENT IRRITANT ACCEPTABLE

ÉTUDE	ESPÈCE, SOUCHE ET DOSE	DL ₅₀ , DSENO ET DMENO	ORGANE CIBLE, EFFETS IMPORTANTS ET COMMENTAIRES
ÉTUDES DE TOXICITÉ AIGUË			
VectoLex WDG			
Toxicité par voie orale	<p>Rats - Sprague-Dawley, jeunes adultes</p> <p>- 5 par traités avec le VectoLex WDG dans de l'eau désionisée à raison de 5 050 mg/kg p.c., par gavage</p>	DL ₅₀ supérieure à 5 050 mg/kg p.c.	<p>- Aucun décès</p> <p>- Baisse de la défécation observée chez 2 des 10 animaux après 2 h.</p> <p>- Un des mâles a perdu du poids entre les jours 7 et 14.</p> <p>- À l'autopsie, poumons tachetés observés chez 3 des 5 mâles et chez toutes les femelles; reins tachetés observés chez une femelle et un mâle.</p> <p>- L'auteur de l'étude a indiqué que ces résultats pourraient être liés à un processus infectieux connu chez les rats de cet âge et qui ne s'accompagne d'aucun signe clinique.</p> <p>- Les décolorations des poumons pourraient également indiquer une réaction immunologique normale à un antigène étranger (due à une erreur de dosage ou à l'aspiration accidentelle du matériel de gavage) ou une réaction toxicologique aux ingrédients utilisés dans la formulation du VectoLex WDG.</p> <p>- Aucune des autres études réalisées avec la souche 2362 du Bsph n'a révélé un quelconque effet sur les reins.</p> <p>FAIBLE TOXICITÉ ACCEPTABLE</p>
Toxicité par inhalation	<p>Rats - Sprague-Dawley</p> <p>- 5/sexe traités avec le VectoLex WDG, 4 h, voie nasale uniquement</p> <p>- 0,435 mg/L, DAMM = 0,6 µm, É.-T.G. = 110,5</p>	CL ₅₀ supérieure à 0,435 mg/L	<p>- Aucune mortalité</p> <p>- Aucun signe de toxicité</p> <p>- Aucune lésion observée à la nécropsie</p> <p>FAIBLE TOXICITÉ ACCEPTABLE</p>

ÉTUDE	ESPÈCE, SOUCHE ET DOSE	DL ₅₀ , DSENO ET DMENO	ORGANE CIBLE, EFFETS IMPORTANTS ET COMMENTAIRES
ÉTUDES DE TOXICITÉ AIGUË			
Toxicité cutanée	Lapins - NZB - 5 par sexe traités avec 5 050 mg/kg p.c. de VectoLex WDG dilué dans de l'eau désionisée à raison de 1,08 ml/g. Application sur au moins 10 % de la surface du corps, suivie d'un rinçage après 24 h.	DL ₅₀ supérieure à 5 050 mg/kg p.c.	- Aucun décès - Baisse de la défécation observée chez un mâle, 4 h après le traitement. - Excréments mous chez les femelles, 1 à 4 h après le traitement. - Érythème modéré à grave et œdème léger à modéré observés chez tous les sujets une heure après le retrait de la compresse. - Oedème disparu au bout de 4 jours; érythème disparu au bout de 14 jours. - Saignements, ecchymoses, nécroses desquamation, durcissement, escarres et fendillements latéraux peu profonds observés aux jours 1, 4, 7 et 11. - Une des femelles n'a pas pris de poids. - Aucune lésion observée à l'autopsie. FAIBLE TOXICITÉ ACCEPTABLE
Irritation cutanée	Lapin - NZB - 3 par sexe traités avec 500 mg de VectoLex WDG dans 0,5 ml d'eau désionisée, 2,5 × 2,5 cm, 4 h	IMI 0,83/8 (1h après le retrait de la compresse) CMM 0,11/8 (24, 48 et 72 h après le retrait de la compresse)	- Très léger érythème observé chez 2 des 3 mâles et chez 2 des 3 femelles 1 h après le retrait de la compresse, et chez un mâle et une femelle 24 h après le retrait de la compresse. - Très léger œdème observé chez un sujet 1 h après le retrait de la compresse. IRRITANT LÉGER ACCEPTABLE
Irritation oculaire	Lapins - NZB - 3 par sexe traités par instillation de 0,1 ml de VectoLex WDG (44,6 mg) dans l'œil droit, sans rinçage	IMI 5,3/110 (1 h après l'instillation) CMM 1,1/110 (24, 48 et 72 h après l'instillation)	- Irritation de la conjonctive observée dans les yeux de tous les sujets, 1 h après l'instillation. IRRITATION MINIMALE ACCEPTABLE
¹ SVE = substance vivante à l'essai ² SME = substance morte à l'essai ³ SVEI = substance vivante à l'essai, hôte immunodéprimé		⁴ SMEI = substance morte à l'essai, hôte immunodéprimé ⁵ IMI = indice maximum d'irritation ⁶ CMM = cote moyenne maximale	

Annexe II Évaluation environnementale

Tableau 1 Résumé des effets sur les organismes terrestres

ORGANISMES	EXPOSITION	SUBSTANCE À L'ESSAI	VALEUR DE RÉFÉRENCE	EFFETS IMPORTANTS, COMMENTAIRES
Vertébrés				
Oiseaux	Voie orale	Sérotype H-5a5b de Bsph (souche 2362 de Bsph)	DL ₅₀ > 9 g/kg p.c. ou > 2,98 × 10 ¹³ CFU/kg p.c.	<ul style="list-style-type: none"> - Aucune mort - Aucun signe de toxicité - Aucune lésion observée à l'autopsie <p>FAIBLE TOXICITÉ DONNÉES SUPPLÉMENTAIRES REQUISES, la pathogénicité n'ayant pas été étudiée.</p> <ul style="list-style-type: none"> - L'absence de signes cliniques à une dose 4,5 fois supérieure à la dose limite semble indiquer que l'AMLA n'est pas pathogène.
	Voie alimentaire	Poudre technique ABG-6184, matière active Bsph (souche 2362 de Bsph)	DL ₅₀ alimentaire sur 30 jours > 2,4 × 10 ⁶ CFU/kg p.c./jour (dose approximative calculée à partir de la consommation théorique d'un aliment contenant 20 % de la substance à l'essai en poids).	<ul style="list-style-type: none"> - Aucune mort - Aucun signe de toxicité - Aucune lésion observée à l'autopsie <p>FAIBLE TOXICITÉ DONNÉES SUPPLÉMENTAIRES REQUISES, la pathogénicité n'ayant pas été étudiée.</p> <ul style="list-style-type: none"> - L'absence de signes cliniques malgré l'administration d'une dose alimentaire élevée pendant 30 jours consécutifs semble indiquer que l'AMLA n'est pas pathogène.
	Injection intrapéritonéale	Sérotype H-5a5b de Bsph (souche 2362 de Bsph)	Sans objet	<p>INACCEPTABLE à cause des lacunes du protocole d'essai.</p> <ul style="list-style-type: none"> - Résultats ignorés dans l'évaluation du risque.
Mammifères sauvages	L'exigence en matière de données a été levée compte tenu des résultats d'études réalisées sur l'innocuité et la santé humaine.			

ORGANISMES	EXPOSITION	SUBSTANCE À L'ESSAI	VALEUR DE RÉFÉRENCE	EFFETS IMPORTANTS, COMMENTAIRES
Invertébrés				
Abeilles	Voie alimentaire	Concentré de qualité technique Spherimos (souche 2362 de Bsph)	DL ₅₀ utilisée pour l'étude alimentaire > 5 × 10 ⁷ CFU/ml	- Essai arrêté au jour 7 à cause d'un taux de mortalité des témoins supérieur à 20 %. - Taux de mortalité comparable chez les témoins non traités et les sujets traités des essais en parallèle. FAIBLE TOXICITÉ ACCEPTABLE
	Voie alimentaire	ABG-6184 (souche 2362 de Bsph)	CL ₅₀ non calculée (voir effets)	- Taux de mortalité des témoins supérieur à 20 % au jour 4 (expérience 1) ou au jour 10 (expérience 2). - Taux de mortalité et dates des morts comparables chez les témoins et les sujets traités. FAIBLE TOXICITÉ ACCEPTABLE
Coccinelles	Voie alimentaire	Concentré de qualité technique Spherimos (souche 2362 de Bsph)	DL ₅₀ de la solution > 1,5 mg/L (dans laquelle les grains de pollen étaient trempés)	- Aucune mort - Aucun signe de toxicité DONNÉES SUPPLÉMENTAIRES REQUISES POUR LES RAISONS SUIVANTES : - pas de confirmation de la viabilité de l'AMLA; - quantité de solution présente sur les grains de pollen trempés non mesurée; - dose utilisée très faible.
Grillons	Voie alimentaire	Concentré de qualité technique Spherimos (souche 2362 de Bsph)	DL ₅₀ de la solution > 1,5 mg/L (dans laquelle les tranches de pomme étaient trempées)	- Aucune mort - Aucun signe de toxicité DONNÉES SUPPLÉMENTAIRES REQUISES POUR LES RAISONS SUIVANTES : - pas de confirmation de la viabilité de l'AMLA; - quantité de solution présente sur les tranches de pomme trempées non mesurée; - dose utilisée très faible.

ORGANISMES	EXPOSITION	SUBSTANCE À L'ESSAI	VALEUR DE RÉFÉRENCE	EFFETS IMPORTANTS, COMMENTAIRES
Bio-essais	Voie alimentaire	MAQT Bsph (souche 2362 de Bsph)	Bio-essais alimentaires : DL ₅₀ non déterminée (voir effets)	- <i>Trichoplusia ni</i> : taux de mortalité de 96,7 % avec 3 g/L; taux de mortalité de 13,7 % avec 300 mg/L. - <i>Leptinotarsa decemlineata</i> : taux de mortalité corrigé de 11,4 % avec feuilles trempées dans une suspension de 10 g/L. DONNÉES SUPPLÉMENTAIRES REQUISES : - Un bio-essai de remplacement.
Lombrics et autres invertébrés non arthropodes	Exemption relative à la présentation de données accordée en raison de la gamme d'hôtes et du mode d'action de l'AMLA, des résultats d'une étude de la documentation scientifique selon lesquels l'AMLA n'entraîne aucun effet nocif sur les invertébrés non arthropodes non visés, exception faite de l'inhibition de l'éclosion d'œufs de nématodes par un extrait de spores tiré d'une souche étroitement apparentée à l'AMLA.			
Micro-organismes du sol	Données non requises puisque les produits VectoLex ne sont pas destinés à la lutte contre les micro-organismes nuisibles. Compte tenu des caractéristiques biologiques et écologiques et du mode d'emploi proposé de l'AMLA, on estime qu'il présente peu de risques pour les espèces de micro-organismes importants au plan écologique ou économique ou pour les processus biogéochimiques à médiation microbiologique.			
Plantes vasculaires				
Plantes vasculaires	Exemption relative à la présentation de données accordée en raison de la gamme d'hôtes et du mode d'action de l'AMLA.			

Tableau 2 Résumé des effets sur les organismes aquatiques

ORGANISMES	EXPOSITION	SUBSTANCE À L'ESSAI	VALEUR DE RÉFÉRENCE	EFFETS IMPORTANTS, COMMENTAIRES
Vertébrés				
Truites arc-en-ciel	Toxicité aiguë	Concentré de qualité technique du sérotype H-5a5b de Bsph (souche 2362 de Bsph)	CL ₅₀ /CE ₅₀ sur 96 h > 15,5 mg/L (dose nominale : 6,2 × 10 ⁵ CFU/L)	- Aucune mort - Aucun signe de toxicité DONNÉES SUPPLÉMENTAIRES REQUISES : ni la CMP pour la détermination du risque micro-biologique ni la dose limite pour la détermination de la toxicité chimique n'ont été utilisées.

ORGANISMES	EXPOSITION	SUBSTANCE À L'ESSAI	VALEUR DE RÉFÉRENCE	EFFETS IMPORTANTS, COMMENTAIRES
Crapets arlequin	Toxicité aiguë	Concentré de qualité technique du sérotype H-5a5b de Bsph (souche 2362 de Bsph)	CL ₅₀ /CE ₅₀ sur 96 h > 15,5 mg/L (dose nominale : 6,2 × 10 ⁵ CFU/L)	- Aucun décès - Aucun signe de toxicité DONNÉES SUPPLÉMENTAIRES REQUISES : ni la CMP pour la détermination du risque micro-biologique ni la dose limite pour la détermination de la toxicité chimique n'ont été utilisées.
Crapets arlequin	Pathogénicité et infectiosité	Produit de fermentation séché par atomisation, non stabilisé de Bsph (souche 2362 de Bsph)	CL ₅₀ sur 32 jours > 4,41 × 10 ¹⁰ CFU/L (dans le milieu aquatique); 4,41 × 10 ⁹ CFU/g (dans les aliments)	- Un sujet mort (1/30) dans le groupe traité. - Pas de différence significative du taux de survie entre les témoins et les sujets traités. - Taux moyen de croissance significativement inférieur dans le groupe traité, probablement dû à la turbidité de la solution d'essai. - Résultats des nécropsies et des tests histopathologiques normaux. ACCEPTABLE
Menés tête-de-mouton	Toxicité aiguë	Concentré de qualité technique ABG-6184 de Bsph (souche 2362 de Bsph)	CL ₅₀ sur 96 h > 100 mg/L (dose nominale : 7,9 × 10 ⁹ CFU/L) CSEO 22 mg/L	- Aucune mort - Les sujets du groupe exposé à 36, 60 ou 100 mg/L de la SVE remontent plus souvent à la surface; effet probablement dû à une baisse rapide, liée à la concentration du produit, de l'oxygène dissous entre les changements d'eau. DONNÉES SUPPLÉMENTAIRES REQUISES, la pathogénicité n'ayant pas été évaluée.
Menés tête-de-mouton	Pathogénicité/infectiosité	Produit de fermentation séché par atomisation, non stabilisé de Bsph (souche 2362 de Bsph)	CL ₅₀ sur 32 jours > 4,41 × 10 ¹⁰ CFU/L (dans le milieu aquatique); 4,41 × 10 ⁹ CFU/g (dans les aliments)	- Aucune mort - Aucun signe de toxicité résultant du traitement - Résultats des autopsies et des tests histopathologiques normaux ACCEPTABLE

ORGANISMES	EXPOSITION	SUBSTANCE À L'ESSAI	VALEUR DE RÉFÉRENCE	EFFETS IMPORTANTS, COMMENTAIRES
Invertébrés				
Daphnies	Toxicité aiguë, 96 h	Concentré de qualité technique ABG-6184 de Bsph (souche 2362 de Bsph)	CL ₅₀ sur 96 h > 15,5 mg/L (dose nominale : 6,2 × 10 ⁸ CFU/L)	- Aucune mort - Aucun effet subléthal DONNÉES SUPPLÉMENTAIRES REQUISES : ni la CMP pour la détermination du risque microbiologique ni la dose limite pour la détermination de la toxicité chimique n'ont été utilisées.
Éphémères	Toxicité aiguë, 96 h	Concentré de qualité technique ABG-6184 de Bsph (souche 2362 de Bsph)	CL ₅₀ sur 96 h > 15,5 mg/L (dose nominale : 6,2 × 10 ⁸ CFU/L)	- Aucune mortalité - Aucun effet subléthal DONNÉES SUPPLÉMENTAIRES REQUISES : ni la CMP pour la détermination du risque microbiologique ni la dose limite pour la détermination de la toxicité chimique n'ont été utilisées.
Daphnies	Toxicité et pathogénicité, 21 jours	Produit de fermentation séché par atomisation, non stabilisé de Bsph (souche 2362 de Bsph)	CSEO sur 21 jours 4,86 × 10 ⁹ CFU/L (mesurée)	- CE ₅₀ sur 21 jours (immobilité) 2,82 × 10 ⁹ CFU/L (IC 95 % : 1,91 × 10 ¹⁰ à 4,93 × 10 ¹⁰ CFU/L) ACCEPTABLE
Chironomes	Toxicité et pathogénicité, 21 jours	MAQT Bsph (souche 2362 de Bsph)	CE ₅₀ sur 21 jours > 7,6 × 10 ¹⁰ CFU/L	- Pas de différence significative entre le taux de survie des sujets traités et celui des témoins. ACCEPTABLE
Mysidacés	Toxicité aiguë, 96 h	Souche 2362 de Bsph	CSEO sur 96 h 50 mg/L (concentration nominale : 4,0 × 10 ⁹ CFU/L)	- CL ₅₀ sur 96 h > 71 mg/L (IC 95 % : 50 à 100 mg/L) ACCEPTABLE

ORGANISMES	EXPOSITION	SUBSTANCE À L'ESSAI	VALEUR DE RÉFÉRENCE	EFFETS IMPORTANTS, COMMENTAIRES
Huîtres	Toxicité aiguë et dépôt de coquille	Concentré de qualité technique Bsph (souche 2362 de Bsph)	CSEO sur 96 h (dépôt de coquille) 15 mg/L (mesurée $8,6 \times 10^8$ CFU/L)	- CL_{50} sur 96 h > (dépôt de coquille) 42 mg/L (IC 95 % : 26 à 72 mg/L) ACCEPTABLE - La CSEO équivaut à la CPE à laquelle on peut raisonnablement s'attendre après une application répétée de l'AMLA. - Il convient de procéder à une étude à long terme sur l'huître ou sur un autre bivalve dulçaquicole canadien.
Végétaux				
Algues unicellulaires	Toxicité aiguë	Concentré de qualité technique Bsph (souche 2362 de Bsph)	CE_{50} sur 120 h > 2,2 mg/L (dose nominale : $1,7 \times 10^8$ spores/L)	- Pas de différence significative entre le taux de croissance des sujets traités et celui des témoins. DONNÉES SUPPLÉMENTAIRES REQUISES : ni la CMP pour la détermination du risque micro-biologique ni la dose limite pour la détermination de la toxicité chimique n'ont été utilisées.

Références

- Charles, J.-F., C. Nielsen-Leroux et A. Delécluse. 1996. *Bacillus sphaericus* toxins: molecular biology and mode of action. *Annual Review of Entomology* 41:451-472.
- Correa, M., et A. Yousten. 1995. *Bacillus sphaericus* spore germination and recycling in mosquito larval cadavers. *Journal of Invertebrate Pathology* 66:76-81.
- Ellis, R. 2001. *Municipal Mosquito Control Guidelines*. Préparé pour Santé Canada. [En ligne] http://www.members.shaw.ca/nomalathionplease/files/msqctrl2001_e.pdf (page consultée le 14 février 2006)
- Lacey, L.A., et M.S. Mulla. 1990. Safety of *Bacillus thuringiensis* ssp. *israelensis* and *Bacillus sphaericus* to nontarget organisms in the aquatic environment. *Safety of Microbial Insecticides*, chapitre 12. Laird, M., L.A. Lacey et W. Davidson, éd. CRC Press, Inc.
- Organisation mondiale de la santé (OMS). 1985. Informal consultation on the development of *Bacillus sphaericus* as microbial larvicide. TDR/BCV/SPHAERICUS/85.3. 1-24, Genève.
- Wood, D. M., P.T. Tang et R.A. Ellis. 1979. Part 6. The mosquitoes of Canada (Diptera: Culicidae). *The insects and arachnids of Canada*. Agriculture Canada.
- Yap, H.H.. 1990. Field trials of *Bacillus sphaericus* for mosquito control. In : *Bacterial Control of Mosquitoes and Black Flies*. de Barjac, H. et D.J. Sutherland, éd. Unwin Hyman Ltd, London. p. 307-320.
- Yousten, A.A., F.J. Genthner et E.F. Benfield. 1992. Fate of *Bacillus sphaericus* and *Bacillus thuringiensis* serovar *israelensis* in the aquatic environment. *Journal of the American Mosquito Control Association* 8(2):143-148.