



Projet de décision d'homologation

PRD2020-14

Souche Ve6 de *Lecanicillium muscarium* et insecticide biologique Mycotal

(also available in English)

Le 6 octobre 2020

Ce document est publié par l'Agence de réglementation de la lutte antiparasitaire de Santé Canada. Pour de plus amples renseignements, veuillez communiquer avec :

Publications
Agence de réglementation de
la lutte antiparasitaire
Santé Canada
2720, promenade Riverside
I.A. 6607 D
Ottawa (Ontario) K1A 0K9

Internet : Canada.ca/les-pesticides
hc.pmra.publications-arla.sc@canada.ca
Télécopieur : 613-736-3758
Service de renseignements :
1-800-267-6315 ou 613-736-3799
hc.pmra.info-arla.sc@canada.ca

ISSN : 1925-0894 (imprimée)
1925-0908 (en ligne)

Numéro de catalogue : H113-9/2020-14F (publication imprimée)
H113-9/2020-14F-PDF (version PDF)

© Sa Majesté la Reine du chef du Canada, représentée par la ministre de Santé Canada, 2020

Tous droits réservés. Il est interdit de reproduire ou de transmettre l'information (ou le contenu de la publication ou du produit), sous quelque forme ou par quelque moyen que ce soit, reproduction électronique ou mécanique, photocopie, enregistrement sur support magnétique ou autre, ou de la verser dans un système de recherche documentaire, sans l'autorisation écrite préalable de Santé Canada, Ottawa (Ontario) K1A 0K9.

Table des matières

Aperçu.....	1
Projet de décision d'homologation concernant la souche Ve6 de <i>Lecanicillium muscarium</i>	1
Fondements de la décision d'homologation de Santé Canada	1
Qu'est-ce que la souche Ve6 de <i>Lecanicillium muscarium</i> ?	2
Considérations relatives à la santé.....	2
Considérations relatives à l'environnement	4
Considérations relatives à la valeur	5
Mesures de réduction des risques	5
Prochaines étapes.....	6
Autres renseignements.....	6
Évaluation scientifique.....	7
1.0 Propriétés et utilisations du principe actif.....	7
1.1 Description du principe actif	7
1.2 Propriétés physicochimiques du principe actif et de la préparation commerciale	8
1.3 Mode d'emploi	8
1.4 Mode d'action.....	8
2.0 Méthodes d'analyse	9
2.1 Méthode d'identification des microorganismes	9
2.2 Méthode de détermination de la pureté des souches	9
2.3 Méthode de détermination de la teneur en microorganismes du produit destiné à la fabrication de la préparation commerciale	9
2.4 Méthode de détermination et de quantification des résidus (viables ou non viables) du microorganisme actif et des métabolites pertinents	9
2.5 Méthode d'analyse des impuretés pertinentes dans le produit fabriqué.....	10
2.6 Méthode de détermination de la stabilité à l'entreposage et de la durée de conservation du microorganisme.....	10
3.0 Effets sur la santé humaine et animale.....	10
3.1 Résumé sur la toxicité et l'infectivité	10
3.1.1 Essais.....	10
3.1.2 Renseignements additionnels.....	12
3.1.3 Rapports d'incidents concernant la santé humaine ou animale	13
3.1.4 Analyse des dangers.....	13
3.2 Évaluation des risques liés à l'exposition en milieu professionnel et résidentiel et à l'exposition des non-utilisateurs.....	14
3.2.1 Exposition et risques en milieu professionnel et après traitement.....	14
3.2.2 Exposition et risques pour les non-utilisateurs et les personnes vivant en milieu résidentiel	15
3.3.1 Aliments.....	15
3.3.2 Eau potable.....	15
3.3.3 Risques d'exposition aiguë ou chronique par le régime alimentaire pour les sous-populations sensibles.....	15
3.3.4 Exposition globale et risques connexes	16
3.3.5 Limites maximales de résidus.....	16
3.4 Évaluation cumulative	17

4.0	Effets sur l'environnement.....	17
4.1	Devenir et comportement dans l'environnement.....	17
4.2	Effets sur les espèces non ciblées.....	19
4.2.1	Effets sur les organismes terrestres.....	20
4.2.2	Effets sur les organismes aquatiques.....	26
4.3	Rapports d'incidents concernant l'environnement.....	27
5.0	Valeur.....	27
6.0	Considérations relatives à la politique sur les produits antiparasitaires.....	28
6.1	Considérations relatives à la Politique de gestion des substances toxiques.....	28
7.0	Résumé.....	29
7.1	Méthodes d'analyse du microorganisme, tel qu'il est fabriqué.....	29
7.2	Santé et sécurité humaines.....	29
7.3	Risques pour l'environnement.....	30
7.4	Valeur.....	31
8.0	Décision réglementaire proposée.....	31
	Liste des abréviations.....	32
	Annexe I Tableaux et figures.....	34
	Tableau 1 Profil de toxicité des insecticides biologiques Mycototal technique et Mycototal.....	34
	Tableau 2 Toxicité/pathogénicité de Mycototal pour les espèces non ciblées.....	35
	Références.....	37

Aperçu

Projet de décision d'homologation concernant la souche Ve6 de *Lecanicillium muscarium*

Sous le régime de la *Loi sur les produits antiparasitaires*, l'Agence de réglementation de la lutte antiparasitaire (ARLA) de Santé Canada propose l'homologation à des fins de vente et d'utilisation de l'insecticide biologique technique Mycotal et de l'insecticide biologique Mycotal, contenant comme principe actif de qualité technique la souche Ve6 de *Lecanicillium muscarium*, pour la répression des aleurodes sur les tomates de serre.

Une évaluation des renseignements scientifiques disponibles révèle que, dans les conditions d'utilisation approuvées, les produits antiparasitaires ont une valeur et ne présentent aucun risque inacceptable pour la santé humaine ou pour l'environnement.

Le présent aperçu décrit les principaux points de l'évaluation, et l'évaluation scientifique fournit des renseignements techniques détaillés sur les évaluations des risques pour la santé humaine et pour l'environnement, ainsi que sur la valeur de la souche Ve6 de *L. muscarium* et de l'insecticide biologique Mycotal.

Fondements de la décision d'homologation de Santé Canada

L'objectif premier de la *Loi sur les produits antiparasitaires* est de prévenir les risques inacceptables pour les personnes et l'environnement que présente l'utilisation des produits antiparasitaires. Les risques pour la santé ou l'environnement sont considérés comme acceptables¹ s'il existe une certitude raisonnable que, dans les conditions d'homologation proposées, l'utilisation des produits et l'exposition à ceux-ci ne causeront aucun tort à la santé humaine, aux futures générations ou à l'environnement. La Loi exige aussi que les produits aient une valeur² lorsqu'ils sont utilisés conformément au mode d'emploi figurant sur leur étiquette respective. Les conditions d'homologation peuvent inclure l'ajout de mises en garde particulières sur l'étiquette d'un produit en vue de réduire davantage les risques.

Pour en arriver à une décision, l'ARLA se fonde sur des politiques et des méthodes modernes et rigoureuses d'évaluation des risques. Ces méthodes tiennent compte des caractéristiques uniques des sous-populations humaines qui sont sensibles (par exemple, les enfants) et des organismes présents dans l'environnement. Ces méthodes et politiques tiennent également compte de la nature des effets observés et de l'incertitude des prévisions concernant les répercussions de l'utilisation des pesticides.

¹ « Risques acceptables » tels que définis au paragraphe 2(2) de la *Loi sur les produits antiparasitaires*.

² « Valeur » telle que définie au paragraphe 2(1) de la *Loi sur les produits antiparasitaires* : « L'apport réel ou potentiel d'un produit dans la lutte antiparasitaire, compte tenu des conditions d'homologation proposées ou fixées, notamment en fonction : a) de son efficacité; b) des conséquences de son utilisation sur l'hôte du parasite sur lequel le produit est destiné à être utilisé; et c) des conséquences de son utilisation sur l'économie et la société de même que de ses avantages pour la santé, la sécurité et l'environnement. »

Pour obtenir de plus amples renseignements sur la façon dont Santé Canada réglemente les pesticides, sur le processus d'évaluation et sur les programmes de réduction des risques, veuillez consulter la section Pesticides et lutte antiparasitaire du site Web Canada.ca.

Avant d'arrêter une décision au sujet de l'homologation de la souche Ve6 de *L. muscarium* et de l'insecticide biologique Mycotal, l'ARLA de Santé Canada examinera tous les commentaires reçus du public en réponse au présent document de consultation.³ Santé Canada publiera ensuite un document de décision⁴ d'homologation concernant la souche Ve6 de *L. muscarium* et l'insecticide biologique Mycotal, dans lequel seront présentés sa décision, les raisons qui la justifient, un résumé des commentaires reçus au sujet du projet de décision et sa réponse à ces commentaires.

Afin d'obtenir des précisions sur les renseignements exposés dans cet aperçu, veuillez consulter l'évaluation scientifique du présent document de consultation.

Qu'est-ce que la souche Ve6 de *Lecanicillium muscarium*?

La souche Ve6 de *L. muscarium* est le principe actif contenu dans le produit microbien à usage commercial, l'insecticide biologique Mycotal, dont l'utilisation permet de réprimer les aleurodes sur les tomates de serre. La souche Ve6 de *L. muscarium* est un champignon qui tue les insectes en les contaminant et en poussant à l'intérieur de ceux-ci. Il est activé par le contact.

Considérations relatives à la santé

Les utilisations approuvées de la souche Ve6 de *Lecanicillium muscarium* peuvent-elles nuire à la santé humaine?

Il est peu probable que la souche Ve6 de *Lecanicillium muscarium* nuise à la santé humaine lorsque l'insecticide biologique Mycotal est utilisé conformément au mode d'emploi qui figure sur l'étiquette.

Une exposition à la souche Ve6 de *L. muscarium* peut survenir pendant la manipulation et l'application de l'insecticide biologique Mycotal, ainsi que par ingestion de produits agricoles traités avec ce produit. Au moment d'évaluer les risques pour la santé, plusieurs facteurs importants sont pris en compte :

- les propriétés biologiques du microorganisme (par exemple, son cycle d'infection);
- les rapports faisant état d'effets nocifs;
- la capacité du microorganisme à provoquer des maladies ou des effets toxiques, comme indiqué dans des études toxicologiques;
- le degré d'exposition possible à cette souche par comparaison au degré d'exposition possible à d'autres souches de ce microorganisme déjà isolées dans la nature.

³ « Énoncé de consultation », conformément au paragraphe 28(2) de la *Loi sur les produits antiparasitaires*.

⁴ « Énoncé de décision », conformément au paragraphe 28(5) de la *Loi sur les produits antiparasitaires*.

Les doses utilisées pour évaluer les risques sont établies de façon à protéger les sous-populations humaines les plus sensibles (par exemple, les mères qui allaitent et les enfants). Ainsi, l'évaluation des risques tient compte du sexe et du genre des sujets. Seules les utilisations pour lesquelles on a démontré qu'il n'existe aucun risque préoccupant pour la santé sont jugées acceptables à des fins d'homologation.

Les études toxicologiques effectuées sur des animaux de laboratoire permettent de décrire les effets sur la santé qui pourraient découler de l'exposition à de fortes doses d'un microorganisme afin de déterminer les risques de pathogénicité, d'infectivité et de toxicité. Lorsque la souche Ve6 de *L. muscarium* a été testée sur des animaux de laboratoire, un signe de faible toxicité a été observé après une exposition par voie orale, par voie cutanée et par inhalation, mais aucune infectivité n'a été constatée lorsque le produit a été administré par voie intraveineuse. De plus, rien n'indique que l'agent microbien de lutte antiparasitaire (AMLA), la souche Ve6 de *L. muscarium*, cause des maladies ou des effets génotoxiques.

Résidus dans l'eau et les aliments

Les risques liés à la consommation d'eau et d'aliments sont acceptables.

Il est possible de trouver des résidus de la souche Ve6 de *L. muscarium* sur les tomates traitées au moment de la récolte, mais aucun métabolite d'intérêt toxicologique n'est produit par cette souche. De plus, aucun signe d'infectivité ou de toxicité n'a été constaté chez les animaux de laboratoire exposés à la souche Ve6 de *L. muscarium*. Par ailleurs, il est peu probable que des résidus de la souche Ve6 de *L. muscarium* contaminent l'approvisionnement en eau potable à la suite des applications proposées de l'insecticide biologique Mycotal sur les tomates de serre; par conséquent, ces résidus ne sont pas préoccupants pour la santé. Les risques liés à l'exposition par le régime alimentaire sont donc jugés acceptables pour tous les sous-groupes de la population, y compris les nourrissons, les enfants, les adultes et les aînés.

Risques en milieu résidentiel et en milieux autres que professionnels

Le risque estimé lié à l'exposition en milieu non professionnel est acceptable.

L'utilisation de l'insecticide biologique Mycotal est proposée sur les tomates cultivées en serre. L'étiquette du produit comporte des mesures visant à prévenir l'exposition des non-utilisateurs, notamment en limitant l'accès aux sites traités pendant quatre heures ou jusqu'à ce que le produit pulvérisé soit sec.

L'exposition à l'insecticide biologique Mycotal en milieu résidentiel et en milieux autres que professionnels devrait donc être faible lorsque ce produit est utilisé conformément au mode d'emploi qui figure sur son étiquette. Par conséquent, les risques liés à une exposition des résidents et du grand public sont acceptables.

Risques professionnels liés à la manipulation de l'insecticide biologique Mycotal

Les risques professionnels sont jugés acceptables lorsque l'insecticide biologique Mycotal est utilisé conformément au mode d'emploi qui figure sur l'étiquette, y compris aux mesures de protection prescrites.

Les travailleurs qui manipulent l'insecticide biologique Mycotal peuvent entrer en contact direct avec la souche Ve6 de *L. muscarium* par la peau, par les yeux ou par inhalation. Afin de protéger les travailleurs de l'exposition à l'insecticide biologique Mycotal, l'étiquette doit préciser que les personnes qui mélangent, chargent et appliquent le produit doivent porter des gants imperméables, un vêtement à manches longues, un pantalon, des lunettes, un respirateur à masque filtrant approuvé par le National Institute of Occupational Safety and Health (NIOSH), des chaussettes et des chaussures. Les travailleurs doivent respecter un délai de sécurité après le traitement de quatre heures avant de se rendre dans un site traité, ou attendre que le produit pulvérisé soit sec. S'ils doivent entrer dans un site traité durant le délai de sécurité de quatre heures, ils sont tenus de revêtir l'équipement de protection individuelle décrit ci-dessus. Les risques en milieux professionnels ne sont pas préoccupants si les mises en garde sur l'étiquette sont respectées.

Considérations relatives à l'environnement

Qu'arrive-t-il lorsque la souche Ve6 de *Lecanicillium muscarium* est introduite dans l'environnement?

Les risques pour l'environnement sont acceptables.

Lecanicillium muscarium est un microorganisme commun qui est largement répandu dans l'environnement naturel. Il a été isolé à partir de nombreuses espèces d'insectes, d'acariens et d'araignées de régions tropicales et tempérées. Il a également été trouvé sur des aliments en décomposition et des matières organiques et il est souvent isolé depuis le sol et le bois.

L'insecticide biologique Mycotal est une nouvelle préparation commerciale dont l'utilisation est proposée sur les tomates de serre; il n'est pas destiné à être utilisé à l'extérieur. L'utilisation en serre de l'insecticide biologique Mycotal ne devrait pas entraîner d'augmentation durable de *L. muscarium* dans les milieux terrestres et aquatiques au-delà des concentrations de fond naturelles. La souche Ve6 de *Lecanicillium muscarium* peut être introduite dans l'environnement lorsqu'on élimine des déchets végétaux traités et des milieux de croissance. Les spores de la souche Ve6 de *L. muscarium* ne sont pas facilement dispersées par l'air et sont très sensibles à la lumière UV et à la dessiccation. Les spores qui sont transférées au sol par l'eau de pluie ont une persistance limitée à long terme dans ce milieu et ne sont pas lessivées dans les eaux souterraines. Bien que la souche Ve6 de *L. muscarium* puisse pénétrer dans les milieux aquatiques par le ruissellement sur le sol ou depuis les plantes traitées, ce microorganisme ne devrait pas s'établir dans des eaux non aérées ou profondes.

Aucun effet nocif manifeste sur les oiseaux, les poissons d'eau douce et les abeilles domestiques n'a été observé au cours des essais. Aucune preuve d'effets nocifs significatifs sur les oiseaux, les poissons d'eau douce, les arthropodes terrestres non ciblés, les arthropodes aquatiques et les plantes terrestres et aquatiques n'a été trouvée dans la littérature scientifique publiée. En outre, la souche Ve6 de *L. muscarium* n'était ni toxique ni pathogène pour les mammifères de laboratoire par diverses voies d'exposition.

Compte tenu de l'examen critique des études, des justifications scientifiques et de l'information provenant de sources publiques, aucun effet notable n'est attendu chez les oiseaux, les mammifères sauvages, les poissons, les arthropodes terrestres et aquatiques non ciblés ou les végétaux si l'insecticide biologique Mycotal est utilisé conformément au mode d'emploi figurant sur l'étiquette.

Considérations relatives à la valeur

Quelle est la valeur de l'insecticide biologique Mycotal?

L'insecticide biologique Mycotal est un nouveau produit à usage commercial qui permet de réprimer les aleurodes sur les tomates de serre.

Les applications de l'insecticide biologique Mycotal visent le stade nymphal des aleurodes. La souche Ve6 de *Lecanicillium muscarium* est un nouvel organisme destiné à être utilisé contre les aleurodes sur les tomates de serre. L'insecticide biologique Mycotal peut jouer un rôle important sans le cadre d'un programme de lutte antiparasitaire intégrée destiné aux tomates cultivées en serre.

Mesures de réduction des risques

Les étiquettes des produits antiparasitaires homologués précisent leur mode d'emploi. On y trouve notamment des mesures de réduction des risques visant à protéger la santé humaine et l'environnement. Les utilisateurs sont tenus par la loi de s'y conformer.

Voici les principales mesures proposées qui devraient figurer sur l'étiquette de l'insecticide biologique technique Mycotal et de l'insecticide biologique Mycotal afin de réduire les risques relevés dans le cadre de l'évaluation.

Principales mesures de réduction des risques

Santé humaine

Tous les microorganismes, y compris la souche Ve6 de *L. muscarium*, contiennent des substances qui sont des sensibilisants potentiels, et les personnes exposées à des quantités potentiellement importantes de la souche Ve6 de *L. muscarium* peuvent acquérir une sensibilité à celles-ci. Par conséquent, les travailleurs qui manipulent ou appliquent l'insecticide biologique Mycotal doivent porter un vêtement à manches longues, un pantalon, des lunettes de protection, des gants imperméables, un respirateur à masque filtrant approuvé par le NIOSH, des chaussettes et des chaussures.

En outre, il est interdit aux travailleurs non protégés de pénétrer dans les sites traités au cours de l'application et pendant les quatre heures suivantes, ou jusqu'à ce que le produit pulvérisé soit sec.

Environnement

Pour la protection de l'environnement, l'étiquette de la préparation commerciale, l'insecticide biologique Mycotol, comprendra une mise en garde visant à prévenir la contamination des milieux aquatiques par les utilisateurs. L'étiquette de la préparation commerciale comprendra aussi une mise en garde visant à réduire le plus possible le risque environnemental pour les insectes utiles et les insectes pollinisateurs utilisés en serriculture dans le cadre des programmes de lutte antiparasitaire intégrée.

Prochaines étapes

Avant d'arrêter une décision au sujet de l'homologation de la souche Ve6 de *L. muscarium* et de l'insecticide biologique Mycotol, l'ARLA de Santé Canada examinera tous les commentaires reçus du public en réponse au présent document de consultation. Santé Canada acceptera les commentaires écrits au sujet du projet de décision pendant une période de 45 jours à compter de sa date de publication. Les commentaires doivent être adressés aux Publications, dont les coordonnées figurent en page couverture. Santé Canada publiera ensuite un document de décision d'homologation dans lequel seront présentés sa décision, les raisons qui la justifient, un résumé des commentaires formulés au sujet du projet de décision et sa réponse à ces commentaires.

Autres renseignements

Une fois que Santé Canada aura pris sa décision concernant l'homologation de la souche Ve6 de *L. muscarium*, il publiera un document de décision d'homologation (reposant sur l'évaluation scientifique qui suit). En outre, les données des essais cités en référence seront mises à la disposition du public, sur demande, dans la salle de lecture de l'ARLA située à Ottawa.

Évaluation scientifique

Souche Ve6 de *Lecanicillium muscarium* et insecticide biologique Mycotal

1.0 Propriétés et utilisations du principe actif

1.1 Description du principe actif

Microorganisme actif	Souche Ve6 de <i>Lecanicillium muscarium</i>
Utilité	Insecticide pour la répression des aleurodes sur les tomates de serre
Binomiale	Souche Ve6 de <i>Lecanicillium muscarium</i>
Désignation taxonomique⁵	
Règne	Champignons
Embranchement	Ascomycètes
Classe	Sordariomycètes
Ordre	Hypocréales
Famille	Cordyciptaceae
Genre	<i>Lecanicillium</i>
Espèce	<i>muscarium</i>
Souche	Ve6
Renseignement sur l'état des brevets	Aucun
Pureté minimale du principe actif	Principe actif de qualité technique : minimum de 2×10^{10} spores/g Préparation commerciale : minimum de $1,0 \times 10^{10}$ spores/g
Nature des impuretés d'importance toxicologique, environnementale ou autre	Le principe actif de qualité technique ne renferme aucune impureté ni aucun microcontaminant appartenant à la catégorie des substances de la voie 1 de la Politique de gestion des substances toxiques. Ce produit doit satisfaire aux normes relatives au rejet de contaminants microbiologiques. En outre, on ne connaît aucune toxine ni aucun métabolite toxique pour les mammifères qui sont présents dans le principe actif de qualité technique ou la préparation commerciale.

⁵ National Center for Biotechnology Information - Taxonomy Browser, en anglais seulement (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/taxonomy>)

1.2 Propriétés physicochimiques du principe actif et de la préparation commerciale

Produit technique : insecticide biologique technique Mycotal

Propriété	Résultat
Couleur	Beige
État physique	Solide (pâte congelée)
Odeur	Inodore
Viscosité	34,1 mPa
pH	4 à 5
Densité relative	1,011 kg/L

Préparation commerciale : insecticide biologique Mycotal

Propriété	Résultat
Couleur	Ivoire
État physique	Solide (granulés)
Odeur	Inodore
Viscosité	Non précisé
Suspensibilité (solution à 0,1 %)	90 à 100 %
pH (1 %)	7 à 7,2
Densité relative	1,011 kg/L

1.3 Mode d'emploi

L'insecticide biologique Mycotal contient la souche Ve6 de *L. muscarium*, un champignon entomopathogène, à une teneur garantie de 1×10^{10} spores par gramme pour la répression des aleurodes sur les tomates de serre. Il peut être appliqué jusqu'à un maximum de 24 applications par an (12 applications par cycle de culture) à une concentration de 1 g de produit/L avec un intervalle minimal de réapplication de 7 jours. On peut utiliser un agent de surface non ionique avec l'insecticide biologique Mycotal à raison de 0,02 % (v/v).

1.4 Mode d'action

La souche Ve6 de *Lecanicillium muscarium* est un champignon entomopathogène qui provoque des maladies chez les insectes. Lorsque les spores du champignon entrent en contact avec la cuticule d'un hôte, elles germent, pénètrent dans le corps de l'hôte et produisent des hyphes, qui finissent par tuer l'hôte. Elle est active par contact.

2.0 Méthodes d'analyse

2.1 Méthode d'identification des microorganismes

Le demandeur a soumis des méthodes acceptables pour la détection, l'isolement et le dénombrement du principe actif, la souche Ve6 de *L. muscarium*. L'AMLA a été entièrement caractérisé en ce qui a trait à l'origine de la souche, à son abondance naturelle et à ses propriétés biologiques.

La souche Ve6 de *L. muscarium* peut être identifiée à l'espèce grâce à une combinaison de méthodes phénotypiques et biochimiques et d'analyses phylogénétiques. L'identité de l'AMLA au niveau de la souche peut également être confirmée par une analyse utilisant des amorces d'ADN spécifiques.

2.2 Méthode de détermination de la pureté des souches

La souche a été déposée dans la CABI Genetic Resource Collection (Surrey, Royaume-Uni), dans la Centraal Bureau Schimmelcultures (CBS), Baarn (Pays-Bas), et dans l'Agricultural Research Service Collection of Entomopathogenic Fungi (ARSEF) du Département de l'Agriculture des États-Unis (USDA; Ithaca, États-Unis), sous les numéros d'identification de souche IMI 268317 et ARSEF 5128, respectivement. La souche est conservée par le fabricant d'une manière suffisante pour en maintenir la pureté et la stabilité.

Le demandeur a décrit des méthodes acceptables sur le plan de la détermination de la pureté, de la viabilité et de la stabilité génétique des banques.

2.3 Méthode de détermination de la teneur en microorganismes du produit destiné à la fabrication de la préparation commerciale

Les garanties du principe actif de qualité technique et de la préparation commerciale sont exprimées en unités formatrices de colonies par millilitre (UFC/ml). Des données représentatives portant sur cinq lots du principe actif de qualité technique et sur sept lots de la préparation commerciale ont été soumises. La méthode de détermination du nombre d'UFC a été décrite de manière adéquate.

2.4 Méthode de détermination et de quantification des résidus (viables ou non viables) du microorganisme actif et des métabolites pertinents

Comme il est indiqué ci-dessus, il existe des méthodes acceptables pour dénombrer les microorganismes et pour distinguer cet AMLA des autres espèces du genre *Lecanicillium*.

2.5 Méthode d'analyse des impuretés pertinentes dans le produit fabriqué

Les procédures d'assurance de la qualité utilisées pour limiter la contamination des microorganismes lors de la fabrication de l'insecticide biologique technique Mycotol et de l'insecticide biologique Mycotol sont acceptables. Ces procédures comportent la stérilisation de tout l'équipement et des milieux, ainsi qu'un échantillonnage fréquent de la culture mère et des lots de production pour en déterminer la pureté et la contamination.

L'absence de pathogènes humains et de concentrations inférieures au seuil de microorganismes contaminants a été démontrée lors de l'évaluation préliminaire microbienne de lots de l'insecticide biologique technique Mycotol et de l'insecticide biologique Mycotol par des méthodes standards de détection et de comptabilisation des contaminants microbiens préoccupants. Tous les lots de l'insecticide biologique technique Mycotol et de l'insecticide biologique Mycotol respectaient les limites établies dans le document de l'Organisation de coopération et de développement économiques (OCDE) sur les contaminants microbiens des produits antiparasitaires microbiens [ENV/JM/MONO(2011)43].

2.6 Méthode de détermination de la stabilité à l'entreposage et de la durée de conservation du microorganisme

Le demandeur a fourni les données requises sur la stabilité à l'entreposage de l'insecticide biologique Mycotol. À la lumière des résultats, le produit peut être entreposé pendant 6 mois à une température de 4 °C.

3.0 Effets sur la santé humaine et animale

3.1 Résumé sur la toxicité et l'infectivité

3.1.1 Essais

L'ARLA a procédé à un examen détaillé des études de toxicité, d'infectivité et de pathogénicité visant l'insecticide biologique technique Mycotol et la préparation commerciale connexe, l'insecticide biologique Mycotol.

L'ensemble de données comprenait une étude de toxicité et de pathogénicité aiguë par voie orale, des études de toxicité (aiguë et subaiguë) par inhalation, une étude d'infectivité aiguë par injection intraveineuse (IV), une étude de toxicité aiguë par voie cutanée et une étude du micronoyau. Les études de toxicité par voie orale et par injection ont été réalisées avec l'insecticide biologique technique Mycotol. La substance d'essai utilisée pour les études par inhalation et par voie cutanée était une formulation de poudre mouillable équivalente à l'insecticide biologique Mycotol. Les produits de formulation contenus dans la poudre mouillable ne devraient pas contribuer à la toxicité. L'étude du micronoyau chez le rat a été réalisée sur une suspension de la souche Ve6 de *L. muscarium* (identifiée comme synonyme de la souche VE-6 de *V. lecanii*).

Dans l'étude de toxicité/pathogénicité aiguë par voie orale, des groupes de rats Crj:CD (SD) IGS (14/sexe) âgés de 5 semaines ont reçu à jeun une dose orale unique de l'insecticide biologique technique Mycotal dans une solution saline tamponnée au phosphate (PBS) à raison de $1,2 \times 10^8$ spores/animal. Les animaux ont été observés sur une période allant jusqu'à 21 jours, et les sacrifices en cours d'étude ont été effectués aux jours 3, 7, 14 et 21. Aucune mortalité n'a été observée dans aucun des groupes pendant l'étude. Aucun signe clinique lié au traitement ni aucun résultat anormal à l'autopsie n'ont été signalés et tous les animaux ont pris du poids au cours de l'étude. La substance d'essai a été confirmée comme étant viable et l'installation d'essai a fourni des méthodes acceptables pour le dénombrement de l'AMLA dans les tissus. Toutefois, il était inhabituel que l'AMLA ne soit jamais retrouvé chez les rats traités, et ce, à aucun moment de l'étude. On n'a donc pas pu établir le profil d'élimination et on n'a pas pu tirer de conclusion concernant l'infectivité.

Dans l'étude de toxicité aiguë par inhalation, des groupes de rats Crl:WI(WU)BR (5/sexe) âgés de 8 à 9 semaines ont été exposés par inhalation à de la poudre mouillable de Mycotal ($1,08 \times 10^{10}$ spores/g) dans l'eau pendant 4 heures, par le nez seulement, à une concentration de 0,893 mg/L. Les animaux ont ensuite été observés pendant 14 jours. La mortalité est survenue chez un mâle au jour 6. Les examens macroscopiques ont révélé une décoloration rouge et/ou pâle des poumons chez tous les rats, y compris chez le rat mort. En outre, un affaissement incomplet des poumons a été observé, ce qui pourrait indiquer un changement pathologique conduisant à l'emprisonnement de l'air dans certaines parties des poumons.

Dans l'étude de toxicité subaiguë par inhalation, des groupes de rats Crl:WI(WU)BR âgés de 8 à 9 semaines (5/sexe) ont été exposés par inhalation (nez seulement) à de la poudre mouillable de Mycotal ($1,08 \times 10^{10}$ spores/g dans l'eau) 6 heures par jour, 5 jours par semaine pendant 28 jours (20 jours d'exposition), à des concentrations de 1, 10 et 100 mg/m³ (0,001, 0,01 et 0,1 mg/L). Les animaux ont été observés quotidiennement pendant 28 jours. Aucune mortalité ni aucun signe clinique lié au traitement n'a été noté. L'examen à l'autopsie a révélé des poumons gris, spongieux et/ou gonflés, et des ganglions lymphatiques médiastinaux hypertrophiés, blancs et/ou fermes chez plusieurs mâles et femelles des groupes ayant reçu les doses de 0,01 et 0,1 mg/L. L'examen microscopique a montré des changements liés au traitement indiquant une réponse inflammatoire dans les voies respiratoires et les ganglions lymphatiques médiastinaux chez tous les groupes traités. Les changements étaient plus prononcés dans les groupes ayant reçu les doses de 0,01 et 0,1 mg/L. Cependant, comme les changements observés à la faible dose n'étaient que légers, cette dose a été considérée comme une dose minimale entraînant un effet.

Dans l'étude d'infectivité aiguë par voie intraveineuse, des groupes de jeunes rats adultes Crj:CD (SD) IGS (3 et 5/sexe/groupe) ont reçu le principe actif de qualité technique Mycotal ($9,95 \times 10^{10}$ spores/g) dans la solution PBS à une dose de $1,2 \times 10^7$ spores/animal. Les animaux ont ensuite été observés pendant une période allant jusqu'à 21 jours. Aucun cas de mortalité n'a été observé, et tous les animaux ont paru normaux pendant toute la durée de l'étude. Un profil d'élimination de l'AMLA a été établi au jour 7 pour les organes et les tissus prélevés.

Dans une étude de toxicité aiguë par voie cutanée, un groupe de jeunes lapins néo-zélandais blancs adultes (5/sexe) a été exposé par voie cutanée à de la poudre mouillable de Mycotal (10^8 spores/animal) diluée dans une solution saline physiologique stérile pendant 24 heures. La

dose a été appliquée sur une zone de 6 cm² de la surface du corps. Les animaux ont ensuite été mis en observation pendant 14 jours afin de déceler la présence éventuelle d'effets toxiques et d'irritation de la peau. L'étude ne fait état d'aucune réaction cutanée et indique que l'administration de la substance d'essai par voie cutanée n'influe pas sur le gain de poids corporel chez les animaux testés.

Dans l'étude du micronoyau, une suspension de l'AMLA (équivalant à $2,4 \times 10^9$ spores/mL) a été administrée (dans de la carboxyméthylcellulose à 0,5 %) en deux doses quotidiennes consécutives par gavage, à des groupes de rats Sprague-Dawley femelles et mâles (5/sexe) à des doses de 5, 10 et 20 mL/kg/j. Les animaux du groupe témoin négatif ont reçu la même dose de l'excipient carboxyméthylcellulose. Un groupe similaire d'animaux a reçu par injection intrapéritonéale du cyclophosphamide à 25 mg/kg p.c., et ces animaux ont constitué le groupe témoin positif. Les animaux ont été sacrifiés 24 heures après la dernière administration. À la fin de l'étude, les fémurs ont été enlevés et la moelle osseuse a été extraite avec le sérum de veau fœtal. Les suspensions cellulaires ont été centrifugées pendant 5 minutes à 1 000 tours/minute et les frottis ont été préparés à partir du produit centrifugé. Les frottis ont été colorés selon la technique Giemsa (Schimid, 1975) et les lames ont été examinées pour détecter les érythrocytes polychromatiques, et le ratio érythrocytes polychromatiques/normochromatiques a été rapporté. Aucune toxicité n'a été signalée, et l'AMLA n'était ni clastogène ni aneugène.

Les résultats des essais sont résumés au tableau 1 de l'annexe I.

3.1.2 Renseignements additionnels

Une recherche documentaire a été effectuée dans les bases de données PubMed, MEDLINE et TOXFILE jusqu'en 2018. La souche *Lecanicillium* et d'autres espèces/souches apparentées sur le plan phylogénétique au genre *Verticillium* ont été utilisées comme termes de recherche. Aucun agent pathogène humain n'est connu dans le genre *Lecanicillium*. Cependant, dans certaines conditions, les spores naturelles de *L. muscarium* peuvent provoquer des réactions d'hypersensibilité. Les résultats de la recherche n'ont pas révélé d'effets indésirables associés à la souche Ve6 de *L. muscarium*. Des espèces de *Lecanicillium* ont cependant été impliquées dans des infections humaines où les patients pouvaient avoir des problèmes de santé sous-jacents. Tous les patients se sont rétablis après avoir reçu un traitement antifongique.

On a rapporté un cas de pneumopathie d'hypersensibilité chez un patient exposé à l'eau d'un humidificateur provenant d'un système d'humidification, de ventilation et de climatisation contaminé par l'espèce *Lecanicillium*.

La production de métabolites par des entomopathogènes, dont *Lecanicillium*, est bien documentée dans la littérature scientifique. La production des métabolites fongiques semble être très dépendante des conditions de culture et de la souche. La production de toxines touchant les mammifères par la souche Ve6 de *L. muscarium* n'a pas été démontrée et n'est pas connue pour faire partie de ses caractéristiques pathogènes.

3.1.3 Rapports d'incidents concernant la santé humaine ou animale

La souche Ve6 de *L. muscarium* est un nouveau principe actif en cours d'homologation au Canada. En date du 1^{er} mai 2020, aucun rapport d'incident n'avait été soumis à l'ARLA.

La souche F52 de *Metarhizium anisopliae* est considérée comme étant apparentée à la souche Ve6 de *L. muscarium*, d'après les similitudes de taxonomie et de mode d'action. Trois incidents chez les humains (ayant touché un total de neuf personnes) impliquant la souche F52 de *M. anisopliae* ont été signalés à l'ARLA. Des effets nocifs (par exemple, toux, difficultés respiratoires, maux de tête, fatigue) ont été signalés à la suite d'expositions respiratoires et on a déterminé qu'ils étaient au moins possiblement liés au pesticide. Dans l'ensemble, compte tenu du faible nombre d'incidents chez les humains et du fait que les expositions se sont produites en raison d'une utilisation inappropriée de l'EPI exigé sur l'étiquette du produit, aucune mesure d'atténuation supplémentaire n'est proposée d'après l'examen des déclarations d'incident.

3.1.4 Analyse des dangers

L'ensemble de données présenté à l'appui de l'homologation de la souche Ve6 de *L. muscarium* et de l'insecticide biologique Mycototal a été examiné du point de vue de la santé humaine et de la sécurité et a été jugé acceptable.

À la lumière des renseignements disponibles, le principe actif de qualité technique, en l'occurrence l'insecticide biologique technique Mycototal, est peu toxique par voie orale et n'est ni pathogène ni infectieux par voie intraveineuse. L'étude du micronoyau n'a pas révélé d'effet génotoxique. La préparation commerciale, en l'occurrence l'insecticide biologique Mycototal, est peu toxique par inhalation et par voie cutanée, mais peut provoquer une inflammation des tissus respiratoires à la suite d'une exposition pulmonaire répétée. La préparation commerciale n'est pas non plus irritante pour la peau. En raison de l'absence de données acceptables sur l'irritation oculaire, les étiquettes du principe actif de qualité technique et des préparations commerciales porteront les mentions habituelles concernant la protection oculaire devant faire partie de l'EPI, avec les mentions de danger « ATTENTION : IRRITANT POUR LES YEUX ». L'AMLA est considéré comme étant un sensibilisant potentiel. Par conséquent, l'énoncé de danger « SENSIBILISANT POTENTIEL » doit figurer dans l'aire d'affichage principale de l'étiquette du principe actif de qualité technique et de la préparation commerciale. Les énoncés « Peut entraîner une sensibilisation. Éviter tout contact avec la peau et les vêtements. Éviter d'inhaler ou de respirer la poussière et le brouillard de pulvérisation. » ainsi que « Peut irriter les yeux. Éviter tout contact avec les yeux. » doivent figurer dans l'aire d'affichage secondaire de l'étiquette de la préparation commerciale, sous la rubrique MISES EN GARDE.

Aucune étude plus poussée sur la toxicité chronique et la toxicité subchronique n'était nécessaire, étant donné que le principe actif de qualité technique ne présentait aucune toxicité aiguë suivant son administration par voie orale. En outre, il n'y avait aucun signe d'infectivité ou de pathogénicité chez les animaux testés avec l'AMLA au cours d'une étude de niveau I.

Dans la littérature scientifique existante, aucun rapport ne laisse croire que la souche Ve6 de *L. muscarium* pourrait avoir des effets néfastes sur le système endocrinien des animaux. D'après les données probantes disponibles, on ne s'attend pas à ce que cet AMLA altère le système endocrinien ou le système immunitaire.

3.2 Évaluation des risques liés à l'exposition en milieu professionnel et résidentiel et à l'exposition des non-utilisateurs

3.2.1 Exposition et risques en milieu professionnel et après traitement

Lorsqu'elles respectent le mode d'emploi qui figure sur l'étiquette, les personnes qui appliquent, mélangent, chargent et manipulent le produit peuvent être exposées à celui-ci par voie cutanée, par voie oculaire et par inhalation, la principale voie d'exposition étant la peau. Puisque la peau intacte fait office de barrière naturelle contre la pénétration des microbes dans l'organisme humain, l'absorption cutanée ne pourrait survenir qu'en présence de lésions à la surface de la peau ou dans l'éventualité où le microorganisme serait un agent pathogène doté de mécanismes de pénétration ou d'infection de la peau, ou encore, si des métabolites susceptibles d'être absorbés par la peau étaient produits. Il n'a pas été établi que *Lecanicillium muscarium* est un agent pathogène des plaies cutanées et rien n'indique qu'il pourrait pénétrer la peau intacte des personnes en bonne santé. En outre, les essais effectués à l'aide de l'insecticide biologique technique Mycototal n'ont montré aucune toxicité par voie orale ni aucune infectivité par injection intraveineuse, et la préparation commerciale n'est pas un irritant cutané. En l'absence de données acceptables, l'ARLA considère tous les microorganismes comme des irritants oculaires, et la préparation commerciale peut donc provoquer une irritation des yeux.

Bien que la préparation commerciale ait présenté une faible toxicité par inhalation et par voie cutanée, on a observé dans l'étude de toxicité subaiguë une inflammation limitée des tissus respiratoires. L'ARLA suppose que tous les microorganismes contiennent des substances qui peuvent provoquer des réactions d'hypersensibilité, et ce, quel que soit le résultat des essais de sensibilisation. Par conséquent, des mesures d'atténuation des risques, comme le port d'un EPI, notamment des gants imperméables, un vêtement à manches longues, un pantalon, des lunettes de protection ou un écran facial, un masque respiratoire avec filtre à particules approuvé par le NIOSH et muni d'un filtre N, R ou P, des chaussettes et des chaussures, sont nécessaires pour réduire au minimum l'exposition et protéger les personnes qui appliquent, mélangent, chargent et manipulent le produit et qui sont susceptibles d'y être exposées. En outre, tous les travailleurs et les utilisateurs non protégés doivent attendre 4 heures avant de pénétrer dans les sites traités où l'insecticide biologique Mycototal a été appliqué ou tant que le produit pulvérisé n'est pas sec.

Les avertissements sur l'étiquette ainsi que les restrictions et les mesures d'atténuation des risques propres au produit sont adéquats pour protéger les personnes qui utilisent l'insecticide biologique Mycototal. Dans l'ensemble, les risques professionnels pour les travailleurs sont acceptables pourvu que les mises en garde figurant sur l'étiquette soient respectées, notamment en ce qui concerne le port de l'équipement de protection individuelle.

3.2.2 Exposition et risques pour les non-utilisateurs et les personnes vivant en milieu résidentiel

La demande d'homologation de l'insecticide biologique Mycotal porte uniquement sur son utilisation en serre. Cette utilisation ne devrait pas entraîner une exposition importante des non-utilisateurs et des personnes vivant en milieu résidentiel en raison de la dérive. L'exposition occasionnelle sera atténuée par l'inclusion d'une mise en garde sur l'étiquette, indiquant que tous les travailleurs non protégés doivent demeurer à l'extérieur des zones traitées jusqu'à ce que les embruns de pulvérisation aient séché. Par ailleurs, la préparation commerciale est peu toxique par voie cutanée et par inhalation et on n'a détecté aucun signe indiquant que l'AMLA en question, soit la souche Ve6 de *L. muscarium*, avait causé des maladies dans les études menées sur les animaux de laboratoire. Par conséquent, les risques pour la santé des non-utilisateurs et des personnes vivant en milieu résidentiel sont jugés acceptables.

3.3 Évaluation de l'exposition par le régime alimentaire et des risques connexes

3.3.1 Aliments

Bien que le profil d'emploi proposé puisse entraîner une exposition par voie alimentaire en raison d'éventuels résidus dans ou sur les produits agricoles, les risques liés à la consommation de tomates traitées avec l'insecticide biologique Mycotal sont acceptables, car la souche Ve6 de *L. muscarium* ne s'est pas révélée toxique, pathogène, ou infectieuse dans les études de niveau I. De plus, on n'a trouvé aucun métabolite d'intérêt toxicologique qui soit produit par cet AMLA.

3.3.2 Eau potable

L'exposition par l'eau potable devrait être faible, car l'étiquette comporte les mesures d'atténuation nécessaires pour limiter la contamination de l'eau potable découlant de l'utilisation en serre proposée de la souche Ve6 de *L. muscarium*. En outre, le traitement de l'eau potable dans les installations municipales devrait réduire le transfert de résidus dans l'eau potable, et aucun effet nocif n'a été observé lors des essais de toxicité aiguë par voie orale de niveau I réalisés avec l'insecticide biologique technique Mycotal. Par conséquent, les risques sanitaires liés aux résidus de la souche Ve6 de *L. muscarium* dans l'eau potable sont acceptables.

3.3.3 Risques d'exposition aiguë ou chronique par le régime alimentaire pour les sous-populations sensibles

Il n'est généralement pas possible de calculer les doses aiguës de référence et les doses journalières admissibles qui permettraient de prévoir les effets aigus et à long terme des agents microbiens dans la population générale ou les sous-populations qui pourraient y être sensibles, en particulier les nourrissons et les enfants. La méthode fondée sur la dose unique (risque maximal) est suffisante pour effectuer une évaluation générale raisonnable des risques associés à un AMLA si aucun effet néfaste important (c'est-à-dire aucun critère d'effet préoccupant du point de vue de la toxicité aiguë, de l'infectivité ou de la pathogénicité) n'est relevé dans les essais sur la toxicité et l'infectivité aiguës. D'après tous les renseignements et les données sur les risques dont elle dispose, l'ARLA conclut que la souche Ve6 de *L. muscarium* est faiblement toxique par voie orale, qu'elle n'est ni pathogène ni infectieuse pour les mammifères, et que les nourrissons

et les enfants ne sont vraisemblablement pas plus sensibles à cet AMLA que la population générale. Par conséquent, il n'y a pas d'effet de seuil préoccupant et il n'est donc pas nécessaire d'exiger des essais définitifs (portant sur de multiples doses) ou d'avoir recours à des facteurs d'incertitude afin de tenir compte de la variabilité intra- et interspécifique, à des facteurs de sécurité ou à des marges d'exposition. Dans le cas de cet AMLA, il n'y a pas lieu de prendre en considération les profils de consommation chez les nourrissons et les enfants ni la sensibilité particulière de ces sous-populations à ses effets, notamment aux effets neurologiques associés à l'exposition prénatale et postnatale, ainsi que les effets cumulatifs de l'AMLA sur les nourrissons et les enfants et d'autres microorganismes homologués ayant le même mécanisme de toxicité. Par conséquent, l'ARLA n'a pas employé une démarche fondée sur une marge d'exposition (marge de sécurité) afin d'évaluer les risques que pose la souche Ve6 de *L. muscarium* pour la santé humaine.

3.3.4 Exposition globale et risques connexes

D'après les résultats des essais de toxicité et d'infectivité et d'autres renseignements pertinents dans les dossiers de l'ARLA, il existe une certitude raisonnable que l'exposition globale aux résidus de la souche Ve6 de *L. muscarium* ne sera pas nocive pour la population générale au Canada, y compris les nourrissons et les enfants, lorsque la préparation commerciale est utilisée conformément au mode d'emploi figurant sur l'étiquette. L'exposition globale regroupe toutes les expositions prévues par le régime alimentaire (nourriture et eau potable) et toute autre exposition non professionnelle (par contact cutané et par inhalation) pour lesquelles il existe des données fiables. L'exposition du grand public par voie cutanée et par inhalation sera faible, car le produit est destiné à être utilisé uniquement en serre. En outre, peu d'effets nocifs résultant de l'exposition à d'autres souches de *L. muscarium* présentes dans l'environnement ont été signalés dans la littérature publiée. Même si l'utilisation de l'insecticide biologique Mycotal contribue à accroître l'exposition à la souche Ve6 de *L. muscarium*, elle ne devrait pas entraîner de risques accrus pour la santé humaine.

3.3.5 Limites maximales de résidus

Au cours de l'évaluation préliminaire en vue de l'homologation d'un pesticide, Santé Canada doit s'assurer que la consommation de la quantité maximale de résidus, soit la quantité susceptible de rester sur les produits alimentaires lorsque le pesticide est utilisé conformément au mode d'emploi figurant sur l'étiquette, ne sera pas préoccupante pour la santé humaine. Cette quantité de résidus prévue est alors fixée aux termes de la loi sous forme de limite maximale de résidus (LMR) en vertu de la *Loi sur les produits antiparasitaires* aux fins des dispositions sur la falsification des aliments de la *Loi sur les aliments et drogues*. Santé Canada fixe les LMR en se fondant sur des données scientifiques afin de s'assurer que les aliments offerts au Canada sont sûrs.

Des résidus de la souche Ve6 de *L. muscarium* peuvent être présents sur les tomates traitées en serre au moment de la récolte. Les risques alimentaires pour les humains découlant de l'utilisation proposée de l'insecticide biologique Mycotal sont acceptables, puisque la souche Ve6 de *L. muscarium* présente un faible profil de toxicité et qu'aucun métabolite d'intérêt toxicologique n'est produit par cet AMLA. De plus, la probabilité que des résidus contaminent

des sources d'approvisionnement en eau potable est négligeable, sinon nulle. Par conséquent, l'ARLA a conclu qu'il n'est pas nécessaire de fixer une LMR aux termes de la *Loi sur les produits antiparasitaires* pour la souche Ve6 de *L. muscarium*.

3.4 Évaluation cumulative

La *Loi sur les produits antiparasitaires* exige que l'ARLA tienne compte de l'exposition cumulative des pesticides présentant un mécanisme commun de toxicité. Dans le cadre de l'évaluation, l'ARLA tient compte de la taxonomie des AMLA et de la production de métabolites potentiellement toxiques. Pour la présente évaluation, l'ARLA a déterminé que la souche Ve6 de *L. muscarium* est étroitement apparentée à une autre espèce homologuée comme AMLA au Canada, soit la souche F52 de *Metarhizium anisopliae*. Ces AMLA ne produisent aucun métabolite toxique commun et, compte tenu de leur faible toxicité et pathogénicité, les risques pour la santé liés à l'exposition cumulative à la souche Ve6 de *L. muscarium* et à la souche F52 de *M. anisopliae* sont acceptables lorsqu'ils sont utilisés conformément aux directives figurant sur l'étiquette.

4.0 Effets sur l'environnement

4.1 Devenir et comportement dans l'environnement

Bien que les données sur le devenir dans l'environnement (niveaux II/III) ne soient normalement pas requises au niveau I, des informations et des données sur le devenir et le comportement de la souche Ve6 de *L. muscarium* et d'autres microorganismes étroitement apparentés ont été soumises comme justification scientifique afin d'obtenir une exemption à l'obligation de présenter des essais écotoxicologiques chez des organismes non ciblés.

Lecanicillium muscarium est un microorganisme omniprésent, que l'on trouve dans le monde entier sous une variété de substrats dans l'environnement terrestre. Le champignon a été isolé sur de nombreuses espèces d'insectes, d'acariens et d'araignées sous les tropiques et dans les régions tempérées. Il est également présent sous forme de saprophyte sur les denrées alimentaires et les matières organiques et est couramment isolé du sol et du bois. L'espèce est un hyperparasite des champignons phytopathogènes (principalement les rouilles et les oïdiums), des agarics et à l'occasion des champignons entomogènes. L'utilisation en serre de l'insecticide biologique Mycotal sur les plants de tomates ne devrait pas augmenter de manière significative la concentration de la souche Ve6 de *L. muscarium* au-delà des concentrations de fond. L'exposition de *L. muscarium* dans l'environnement extérieur due à l'utilisation proposée du fongicide biologique Mycotal en serre sera limitée à l'élimination des déchets végétaux et des milieux de croissance.

La persistance à long terme de la souche Ve6 de *L. muscarium* introduite dans l'environnement par des déchets végétaux traités devrait être faible d'après un essai expérimental sur le terrain réalisé aux États-Unis. Des applications aériennes de Mycotal ont été effectuées sur des peuplements de pruches au Tennessee pour lutter contre le puceron lanigère de la pruche en 2009 et 2010. La dose d'application est équivalente à 1×10^{12} spores/ha. Un adjuvant à base d'huile, un agent adhésif, et, dans certains cas, une protéine de lactosérum (une source alimentaire

supplémentaire avant que le champignon n'entre en contact avec l'insecte hôte), ont été appliqués de concert avec Mycotal pour augmenter la longévité et la survie des spores. Aucune souche Ve6 de *L. muscarium* n'a été isolée à partir des aiguilles et des branches de pruche en 2015, ce qui indique un manque de persistance environnementale à long terme, même dans des conditions d'application idéales.

Lecanicillium muscarium est très sensible à la lumière UV. Des suspensions de conidies de *L. muscarium* LSMA 1.08.023 ont été préparées ($5 \pm 2 \times 10^6$ conidies/mL) à partir de cultures de 7 et 14 jours et des gouttelettes de 200 μ L ont été placées en triple dans une boîte de Petri. Les boîtes ont été placées sous une lampe UV de 312 nm pendant 30 minutes, ce qui correspond à une dose totale de 7,2 kJ/m² de lumière UV-B (à titre de comparaison, l'intensité UV-B à Logan, en Utah, au milieu de l'été est de 25 kJ/m²/j). À la fin de l'exposition aux UV, 100 μ L ont été prélevés de chaque gouttelette, placés sur un morceau de cellophane sur gélose à l'eau et incubés à 25 °C. Après 10 à 12 heures d'incubation, la germination des conidies, en l'absence d'exposition aux UV-B, a atteint environ 85 à 95 %. L'exposition aux UV-B a réduit la germination des conidies à moins de 35 %. Ce résultat est conforme à une étude portant sur les effets des UV-B sur le taux de germination de *L. longisporum*, un champignon étroitement apparenté : une exposition à 120 minutes de lumière UV-B (irradiance de 452 mW/m²), équivalant à une dose de 3,26 kJ/m², était létale pour les conidies.

Les conidies de *L. muscarium* introduites dans l'environnement sur les déchets végétaux traités et les milieux de croissance ne se disperseront probablement pas dans l'air, car elles sont regroupées aux extrémités des phialides qui sont recouvertes d'un biofilm. Les spores ne sont pas libérées des conidiophores sans contact avec l'eau, par exemple par la pluie ou les éclaboussures. Les conidies libérées seraient probablement soit sèches, soit transférées au sol.

Les conidies séchées du champignon apparenté, *V. lecanii* (qu'elles se trouvent dans des têtes enduites de biofilm qui se séparent de leur mycélium parent, ou qu'elles soient lavées), sont inactivées en moins de 24 heures à 58 % d'humidité relative.

Dans le sol, la demi-vie de la souche Ve6 de *L. muscarium* est de 4 à 5 jours. Après 4 jours d'incubation à 22 ± 2 °C et une capacité maximale de rétention d'eau par le sol de 20 à 24 %, le dénombrement de la souche Ve6 de *L. muscarium* a rapidement chuté à des valeurs entre 30 et 40 % de la concentration appliquée, puis s'est stabilisé. Dans une autre étude sur la persistance et la viabilité, le sol a été inoculé artificiellement avec 10^5 ou 10^7 UFC/g de l'isolat FZ9906 du champignon apparenté *L. lecanii*. Des échantillons de sol, prélevés à une profondeur de 20 cm, ont été prélevés à intervalles de 10 jours pour les deux premiers mois, puis mensuellement pendant les 12 mois suivants pour déterminer le poids sec du sol et la teneur en UFC. Au cours des 30 à 50 premiers jours, une diminution rapide du nombre d'UFC d'environ 90 % a été observée dans les échantillons de sol. Le nombre d'UFC est ensuite demeuré relativement stable à $2 - 4 \times 10^4$ UFC/g pour les 10 mois suivants. Les isolats de *L. lecanii* récupérés dans le sol traité 14 mois après l'inoculation sont demeurés viables in vitro et in vivo, avec une croissance des colonies, un rendement des conidies et de la germination, et des valeurs CL₅₀ et TL₅₀ contre les pucerons du coton similaires à celles de l'isolat original.

Le nombre d'UFC a ensuite diminué davantage pour atteindre des concentrations indétectables 16 mois après l'inoculation. D'après ces études, on ne s'attend pas à une persistance à long terme de la souche Ve6 de *L. muscarium* dans le sol.

Dans une étude de percolation dans le sol, 1×10^7 UFC de la souche Ve6 de *L. muscarium* ont été ajoutés au sommet de colonnes de sol de 30 cm de profondeur, dont la teneur en humus, en sable, en limon et en humidité variait. Le débit d'eau a été ajusté pour reproduire un niveau de lessivage correspondant à 200 mm de pluie/j. La souche Ve6 de *Lecanicillium muscarium* n'a pas été récupérée dans le filtrat collecté aux jours 4, 7, 14 et 21, ce qui indique qu'elle ne sera pas lessivée dans les eaux souterraines.

La souche Ve6 de *Lecanicillium muscarium* peut pénétrer dans les eaux de surface par le ruissellement des déchets traités et rejetés. Les données disponibles sur la viabilité des spores de la souche Ve6 de *L. muscarium* dans l'eau ont montré que les conidies dans les eaux non aérées ne restent viables que pendant 5 jours au maximum. En revanche, dans les eaux aérées, plus de 95 % des conidies restent viables après 7 jours. Bien que les champignons filamenteux tels que *L. muscarium* remplissent une niche spécifique dans les environnements terrestres en tant que principaux agents décomposeurs et producteurs de matière humique et jouent un rôle dominant dans la reminéralisation de l'azote, ils ne sont pas bien adaptés à la colonisation des systèmes aquatiques.

Dans l'ensemble, on ne s'attend pas à ce que l'utilisation en serre de l'insecticide biologique Mycotal entraîne une augmentation soutenue de la souche Ve6 de *L. muscarium* dans les milieux terrestres ou aquatiques extérieurs au-delà des concentrations de fond naturelles.

4.2 Effets sur les espèces non ciblées

L'ARLA utilise une approche à quatre niveaux pour l'étude des pesticides microbiens dans l'environnement. Les études de niveau I sont des études de toxicité aiguë portant sur un maximum de sept grands groupes taxonomiques d'organismes non ciblés, qui sont exposés à une dose représentant un danger maximal ou à une concentration maximale de provocation de l'AMLA. La concentration maximale de provocation est généralement obtenue à partir de la quantité disponible d'AMLA ou de sa toxine que l'on prévoit après application du produit à la dose maximale recommandée sur l'étiquette multipliée par un facteur de sécurité. Les études de niveau II sont des études sur le devenir dans l'environnement (persistance et dispersion), ainsi que des études additionnelles portant sur la toxicité aiguë de l'AMLA. Les études de niveau III sont des études de toxicité chronique, c'est-à-dire des études sur le cycle de vie et des études de toxicité approfondies, par exemple pour établir la concentration létale à 50 % (CL_{50}) ou la dose létale à 50 % (DL_{50}). Les études de niveau IV sont des études expérimentales de terrain portant sur la toxicité et le devenir qui sont nécessaires pour déterminer s'il y a des effets nocifs dans des conditions d'utilisation réelles.

Le type d'évaluation des risques pour l'environnement effectué sur les AMLA varie selon le niveau nécessaire qui dépend des résultats des essais réalisés. Pour de nombreux AMLA, les études de niveau I sont suffisantes aux fins d'une évaluation des risques environnementaux, car elles sont conçues pour représenter les scénarios de la pire éventualité, lorsque les conditions

d'exposition dépassent largement les concentrations estimées dans l'environnement. Si aucun effet n'est relevé dans les études de niveau I, on conclut que le risque est minime pour le groupe concerné d'organismes non ciblés. Cependant, une étude de niveau supérieur sera nécessaire si une étude de niveau I révèle des effets nocifs importants pour des organismes non ciblés. Ces études de niveau supérieur fournissent des données supplémentaires qui permettent à l'ARLA d'approfondir les évaluations des risques environnementaux. À défaut d'études axées sur le devenir dans l'environnement ou d'études sur le terrain, on peut effectuer une évaluation préliminaire des risques afin de déterminer si l'AMLA est susceptible de constituer un risque pour un groupe d'organismes non ciblés.

L'évaluation préliminaire des risques fait appel à des méthodes simples, à des scénarios d'exposition prudents (par exemple, application directe à la dose maximale d'application) et à des critères d'effet toxicologique sensibles. On calcule le quotient de risque en divisant l'exposition estimée par une valeur toxicologique appropriée (quotient de risque = exposition/toxicité). On compare ensuite ce quotient de risque au niveau préoccupant.

Si le quotient de risque issu de l'évaluation préliminaire est inférieur au niveau préoccupant, les risques sont jugés négligeables et aucune autre caractérisation des risques n'est nécessaire. S'il est égal ou supérieur au niveau préoccupant, on doit alors effectuer une évaluation plus approfondie des risques afin de mieux les caractériser. L'évaluation approfondie fait intervenir des scénarios d'exposition plus réalistes (devenir dans l'environnement et/ou résultats des essais sur le terrain). L'évaluation des risques peut être approfondie jusqu'à ce que les risques soient adéquatement caractérisés ou qu'ils ne puissent plus être caractérisés davantage.

4.2.1 Effets sur les organismes terrestres

Trois études ont été soumises pour examiner les dangers de la souche Ve6 de *L. muscarium* pour les oiseaux et les abeilles domestiques. Des données scientifiques ont également été soumises pour justifier la demande d'exemption concernant les essais supplémentaires sur ces organismes non ciblés et en remplacement des essais sur les arthropodes terrestres et les plantes terrestres. Les justifications scientifiques étaient largement fondées sur le devenir et le comportement dans l'environnement de *L. muscarium* à la suite de l'utilisation en serre du fongicide biologique Mycotol (voir la section 4.1) et sur des recherches dans la littérature publiée auxquelles on a ajouté des essais de détermination de la plage d'hôtes ou de l'efficacité, essais réalisés par le demandeur. Une recherche documentaire a été effectuée dans les bases de données AGRICOLA, AGRIS, BIOSIS Previews, CAB ABSTRACTS, EMBASE, MEDLINE, SCISEARCH et TOXFILE pour trouver des documents publiés jusqu'en 2018. La souche *Lecanicillium* et d'autres espèces/souches apparentées sur le plan phylogénétique au genre *Verticillium* ont été utilisées comme termes de recherche. Les données soumises dans le cadre des essais de toxicité pour la santé humaine et animale ont été prises en compte afin d'évaluer les dangers potentiels pour les mammifères sauvages.

La toxicité aiguë par voie orale et l'infectivité/pathogénicité du principe actif de qualité technique Mycotol ($6,5 \times 10^{10}$ spores/g) pour la caille du Japon (*Coturnix japonica*) de 28 jours ont été évaluées pendant une période de 30 jours. Le principe actif de qualité technique Mycotol a été administré à un total de 30 oiseaux au moyen d'une sonde gastrique à une dose nominale de

10⁸ spores/oiseau/j pendant 5 jours. Aucune mortalité ni aucun effet indésirable n'ont été constatés pendant la période d'observation de 30 jours et tous les animaux ont pris du poids. L'AMLA n'a pas été récupéré dans les tissus (rein, cerveau, foie, poumon, rate, cæcum au jour 30), le sang (jour 30) ou les matières fécales (jours 1, 2, 5, 7, 14 ou 28). Aucune anomalie n'a été constatée à l'autopsie au jour 30. Cependant, on a relevé des insuffisances importantes dans cette étude. L'étude a été menée en 1998 et il n'a pas été possible de confirmer si la substance d'essai a été produite selon la même méthode de fabrication que celle qui est actuellement proposée pour l'homologation de l'insecticide biologique technique Mycotol. En outre, la dose administrée aux oiseaux traités avec Mycotol ne répond pas à la concentration maximale de provocation (CMP; calculée comme étant d'au moins $7,7 \times 10^9$ spores/j pour la plus petite caille de l'étude). De plus, la viabilité de l'AMLA n'a pas été confirmée par le laboratoire d'essai, et aucun certificat d'analyse n'a été fourni. En outre, la méthode de récupération de l'AMLA dans les tissus, le sang et les matières fécales n'a pas été validée et l'absence de substance récupérée dans les matières fécales à quelque moment que ce soit est inhabituelle. À la dose administrée, la substance d'essai ne semble pas être toxique pour les oiseaux par voie orale. Aucune conclusion ne peut être tirée quant au potentiel d'infectivité de la souche Ve6 de *L. muscarium* chez les oiseaux.

Dans une étude de toxicité par voie orale de 72 heures, des abeilles domestiques (*Apis mellifera carnica*) ont été exposées à la poudre de spores de l'insecticide technique Mycotol à des doses mesurées de 1,30, 2,80, 6,02, 13,44, 28,17 et 112,32 µg p.a./abeille. On a observé des décès et des comportements anormaux. L'étude a été interrompue lorsque la mortalité dans le groupe témoin a dépassé 10 % après 96 heures. Après 72 heures, les taux de mortalité corrigés dans les groupes traités à raison de 1,30, 2,80, 6,02, 13,44, 28,17 et 112,32 µg p.a./abeille étaient de 4,3, 0,0, 8,5, 8,5, 0,0 et 8,5 %, respectivement. Les taux de mortalité corrigés relativement faibles (inférieurs ou égaux à 8,5 %) et incohérents après 72 heures indiquent qu'ils n'étaient pas liés au traitement, mais étaient plutôt le résultat de la variabilité des essais entre les groupes traités. Une concentration sans effet observé (CSEO) n'a pas été établie en raison de la nature variable des données sur la mortalité.

Dans une étude de toxicité par contact de 72 heures, des abeilles domestiques (*A. mellifera carnica*) ont été exposées à une suspension de poudre de spores de l'insecticide technique Mycotol (100,00 µg p.a./abeille). On a observé des décès et des comportements anormaux. L'étude a été interrompue après 96 heures lorsque la mortalité dans le groupe témoin a dépassé 10 %. Aucune mortalité liée au traitement n'a été observée après 72 heures.

Bien que les études de toxicité par voie orale et par contact chez les abeilles domestiques aient été menées conformément aux lignes directrices pour l'évaluation de la toxicité, elles sont d'une utilité limitée pour l'évaluation du risque pour les abeilles domestiques. Les études de toxicité par voie orale et par contact ont été menées en 2000 et il n'a pas été possible de confirmer si la méthode de fabrication utilisée pour produire la substance d'essai est la même que celle qui est proposée pour l'insecticide biologique technique Mycotol.

En outre, le potentiel de pathogénicité du principe actif n'a pas pu être déterminé, car la viabilité de la substance d'essai n'a pas été déterminée par le promoteur ou l'installation d'essai et la courte durée de l'étude n'a pas permis d'évaluer l'infectivité de la substance. En outre, pendant des périodes non précisées, l'humidité relative dans les études de toxicité par voie orale et par contact était inférieure aux 70 % d'humidité relative nécessaires à la germination.

Deux essais additionnels sur les abeilles domestiques ont été soumis à l'appui de la demande d'exemption concernant les essais sur les abeilles. Dans le premier essai sur les abeilles, Mycotal (10^{10} spores/g) a été soit saupoudré immédiatement sur un couvain de bourdons (*Bombus terrestris*) (1 g/colonie), soit mélangé avec du pollen (1 g dans 80 g de pollen, ce qui est suffisant pour soutenir environ 2,5 semaines de croissance de la colonie). Trois colonies d'environ 20 ouvrières chacune ont été utilisées dans chacun des groupes traités par exposition à la poussière et au pollen. Les colonies de bourdons ont été maintenues en laboratoire à 28 °C et 65 % d'humidité relative (l'humidité relative dans les nichoirs aurait été supérieure d'environ 10 %, bien que cette valeur ne semble pas avoir été directement mesurée). Mycotal n'a causé aucune mortalité chez les bourdons adultes, les larves ou les nymphes sur une période de 2,5 semaines. Il n'y a pas eu d'impact évident sur le développement de la colonie, si ce n'est que les colonies exposées à la poussière et au pollen ont montré une certaine tendance à la production précoce de jeunes reines. Après le traitement, les adultes et le couvain des colonies étaient recouverts d'une couche visible de poudre qui était ensuite nettoyée par les abeilles et intégrée à la cire.

Néanmoins, aucune croissance fongique n'a été observée dans le nichoir, le couvain ou sur les adultes. L'humidité relative, cependant, était peut-être trop faible pour que les spores puissent germer. L'étude ne comportait pas de témoin pour démontrer la germination de l'AMLA dans les conditions d'essai.

Dans le deuxième essai sur les abeilles (espèces non précisées), on a étudié la possibilité d'utiliser Mycotal pour lutter contre les acariens varroa. On a pulvérisé une suspension de 50 mL de Mycotal ($1,5 \times 10^6$ spores/mL) sur les cadres et les abeilles d'une colonie. Au total, 7 colonies ont été traitées. La température dans les ruches était d'environ 35 °C et légèrement inférieure à l'extérieur du nid de reproduction. L'humidité n'a pas été enregistrée, mais on a déduit qu'elle était faible. L'étude a été menée sur une période de 49 jours. Mycotal n'a eu aucun effet sur la mortalité des abeilles dans les colonies traitées. La mortalité des abeilles dans les colonies traitées par Mycotal étaient en fait plus faible que dans les colonies témoins. Ces résultats étaient probablement dus aux faibles taux d'humidité et aux températures élevées dans les ruches. Étant donné que Mycotal a déjà démontré une bonne efficacité (98 % de mortalité) contre les acariens varroa dans des études de laboratoire lorsque la température était maintenue à 25 °C et l'humidité relative élevée, l'absence d'effets sur les acariens varroa indique que les conditions environnementales dans les ruches n'étaient pas favorables à la germination des spores.

Par comparaison aux résultats des essais sur les abeilles, un document de synthèse allemand comprenait un rapport sur une étude de laboratoire dans laquelle les abeilles domestiques ont été exposées à Mycotal à une dose 10 fois supérieure à la dose d'application recommandée, soit par pulvérisation directe, soit par incorporation dans les aliments (aucun détail n'est fourni). Une mortalité significative des abeilles liée au traitement de 15 % a été observée pour les deux voies d'exposition par rapport au groupe témoin.

Un certain nombre d'études sur la compatibilité de *V. lecanii* et des arthropodes utiles ont été soumises pour obtenir une exemption concernant les essais sur d'autres arthropodes non ciblés. Dans une étude, 3 souches de *V. lecanii* fabriquées et formulées commercialement, dont la souche CBS456.82 (synonyme de la souche Ve6 de *L. muscarium*) et la souche CBS455.82 (synonyme de la souche VE2), ont été mises en suspension dans l'eau du robinet à 2,5 g/L (concentration de l'AMLA non indiquée). Les suspensions ont été appliquées sous forme de fin brouillard sur *Blatella germanica* (blatte allemande, adulte), *Encarsia formosa* (parasite hyménoptère de l'aleurode des serres, adulte), *Phytoseiulus persimilis* (acarien prédateur de tétranyque à deux points, adulte) et *Pieris brassicae* (piéride du chou; 3^e stade larvaire). Les insectes traités ont été maintenus à une température de 18 à 22 °C et à une humidité relative de 50 à 70 % ou supérieure à 90 %. Des observations ont été effectuées pour détecter la mortalité 5 jours et 28 jours après l'application des solutions d'essai. Aucune mortalité n'a été constatée chez *B. germanica* ou *P. brassicae*. À une humidité relative de 90 %, on a observé une mortalité de l'ordre de 6 à 15 % le 5^e jour chez *E. formosa* et *P. persimilis* (12,5 % et 6 % pour la souche CBS456.82 en particulier). La reproduction d'*E. formosa* et de *P. persimilis* entre les jours 5 et 28 a entraîné des taux de mortalité plus faibles et peu fiables au jour 28. Aucune mortalité n'est survenue pour aucun des insectes traités à un taux d'humidité de 50 à 70 %.

Une deuxième étude a montré que *V. lecanii* ($3,6 \times 10^7$ spores/mL) et *E. formosa* peuvent coexister sur la même culture et que la combinaison permet de mieux contrôler les aleurodes que *V. lecanii* seul. Une faible toxicité (moins de 10 % de mortalité) a été observée chez *E. formosa*. Cette conclusion est conforme à un rapport dans lequel un effet synergique a été observé lorsque Mycotal a été utilisé de concert avec le prédateur du thrips *Amblyseus cucumeris* pour lutter contre le thrips des petits fruits sur les chrysanthèmes de serre. Un article de synthèse notait également que, en serre, la dispersion des conidies par le mouvement de l'air est peu probable. Les conidies sont plutôt dispersées par les insectes et les acariens vivants, y compris les acariens prédateurs et les guêpes parasitoïdes utilisés dans les programmes de lutte intégrée. Les auteurs de l'article notent que *V. lecanii* peut occasionnellement infecter *E. formosa* au stade adulte, mais l'impact sur la population de guêpes est très limité.

Dans une autre étude, deux souches de *V. lecanii* ont été utilisées dans des essais biologiques contre 20 espèces d'arthropodes terrestres non ciblés dans les ordres suivants : Coléoptères (larves et adultes), Collembolés (adultes), Hyménoptères (adultes), Diptères (adultes et larves), Névroptères (larves), Dermaptères (adultes), Lépidoptères (larves) et Isoptères (adultes), ainsi qu'une espèce d'araignée *Erigone* et une espèce de cloporte *Oniscus*. Les arthropodes non ciblés ont été placés dans des boîtes de Petri sur du papier filtre humide par groupes de 10 à 20, et pulvérisés avec 3 mL de suspension de spores (10^7 spores/mL). Les arthropodes non ciblés ont ensuite été placés individuellement dans des récipients en perspex avec du papier filtre humide et une réserve de nourriture avant d'être incubés à 25 °C et selon un cycle 16:8 lumière/sans

lumière. Des observations ont été effectuées quotidiennement pendant 7 à 14 jours. La mortalité a été faible (moins de 10 %) dans tous les essais biologiques réalisés sur les arthropodes non ciblés, tandis que les essais biologiques simultanés sur six espèces de pucerons témoins positifs ont entraîné une mortalité de 100 % au 7^e jour.

Un certain nombre d'essais de laboratoire ont été réalisés dans lesquels des organismes utiles (larves et/ou adultes), y compris *Trichogramma cacoeciae*, *E. formosa*, *Aphidius matricariae*, *P. persimilis*, *Typhlodromus pyri*, *Chrysoperla carnea*, *Forficula auricularia* et *Semiadalia 11-notata*, ont été exposés à Micro Germin Plus à la dose d'application maximale recommandée (équivalant à 4 kg/ha). Micro Germin Plus contient deux isolats de *Lecanicillium* : 1-72 (synonyme de la souche VE2 de *L. longisporum*) et VT1, qui est étroitement apparenté à *L. muscarium*. Les taux de mortalité étaient tous inférieurs à 25 % dans ces essais de laboratoire. Des essais en conditions semi-naturelles sur des larves de *C. carnea* et des acariens *P. persimilis* adultes ont également entraîné une mortalité inférieure à 25 % lorsque Micro Germin Plus a été appliqué à raison de 4 kg/ha. Les essais en plein champ sur *T. pyri*, en revanche, ont entraîné une mortalité de 25 à 50 %.

Les effets de divers isolats de *L. muscarium* sur l'aleurode *Bemisia tabaci* (Gennadius), le coléoptère prédateur *Serangium japonicum* et la guêpe parasitoïde *Eretmocerus* sp. nr *furuhashii* ont été évalués. Les quatre isolats de *L. muscarium* ont montré une pathogénicité significative contre les aleurodes du troisième stade larvaire. La sensibilité de *S. japonicum* à l'infection par *L. muscarium* n'était pas significative, mais l'infection peut avoir été un facteur important dans la mortalité des prédateurs. Les résultats semblent indiquer que *L. muscarium* et *S. japonicum* peuvent être combinés pour la lutte intégrée contre l'aleurode *B. tabaci*, mais les spores fongiques doivent être synchronisées pour coïncider autant que possible avec les stades de développement ultérieurs moins sensibles des prédateurs. *Lecanicillium muscarium* a démontré un certain effet sur l'émergence et la survie des guêpes parasitoïdes, en particulier avec des concentrations croissantes de spores fongiques.

Enfin, les blastospores de *V. lecanii* ont été appliquées pour contrer une grave infestation d'aleurodes dans des serres. Une deuxième application a été effectuée 19 jours plus tard. Les rejets d'*E. formosa* 2, 3 et 4 semaines après la deuxième pulvérisation ont permis de supprimer progressivement les aleurodes. *Encarsia formosa* a émergé de plus de 90 % des larves d'aleurodes parasitées, démontrant qu'elle n'était pas affectée par *V. lecanii*. Dans des conditions de laboratoire, qui sont des conditions presque saturées impossibles à obtenir dans des serres, l'émergence d'*E. formosa* à partir des jeunes larves d'aleurodes, pulvérisées avec des blastospores, a cependant été réduite à seulement 10 à 20 %.

Le taux d'émergence des parasitoïdes à un stade larvaire plus avancé et de larves non pulvérisées était supérieur à 50 %. Un taux élevé de mortalité (82 %) a également été observé lorsque *Nabis alternatus* (nabidé), un insecte utile, a été plongé dans une suspension de spores de *V. lecanii* et, par conséquent, il est recommandé de faire preuve de prudence lorsqu'on combine les deux méthodes de biosuppression dans un programme de lutte intégrée.

Prises ensemble, les études sur les arthropodes terrestres citées indiquent que les insectes utiles dans les serres, où l'humidité relative est maintenue à des niveaux élevés et la température est optimisée, peuvent être affectés par la souche Ve6 de *L. muscarium*. Bien que les risques pour les arthropodes non ciblés puissent ne pas être significatifs, dans certaines conditions, on ne doit pas les exclure. C'est pourquoi l'étiquette de l'insecticide biologique Mycotal doit comporter une mise en garde avisant les utilisateurs du danger potentiel pour les insectes utiles utilisés dans les programmes de lutte intégrée contre les ravageurs de serre, et les invitant à éviter d'appliquer directement le produit sur les insectes utiles ou lorsque les abeilles butinent activement dans la zone de traitement.

Dans le cadre d'une autre demande d'exemption concernant les essais sur les plantes non ciblées, cinq essais en serre sur des plants de tomates et de concombres ont été réalisés pour déterminer l'efficacité de l'insecticide biologique Mycotal (préparation commerciale visée par la demande d'homologation) ou de l'insecticide Mycotal WP (une formulation précédente de la préparation commerciale). Chaque essai comportait des observations sur la phytotoxicité et la phytopathogénicité. Aucun effet nocif ou signe de phytotoxicité n'a été signalé parmi les plantes traitées. Mycotal a été homologué au Danemark, en Finlande, aux Pays-Bas, en Italie, en Espagne et au Royaume-Uni, sans qu'aucun effet nocif sur les plantes n'ait été signalé. En plus des essais d'efficacité, une étude examinant l'effet antagoniste de *V. lecanii* sur l'oïdium du concombre a montré que les cellules de *V. lecanii* étaient incapables de pénétrer l'épiderme de la plante malgré les signes d'une série de changements allant d'une vacuolisation accrue à la nécrose complète des lobes haustoriaux formés par l'oïdium.

Dans les études sur les mammifères menées pour satisfaire aux exigences en matière de santé et de sécurité humaines, on a déterminé que la souche Ve6 de *L. muscarium* est peu toxique par voie orale, par inhalation et par voie cutanée, et qu'elle n'est pas pathogène lorsqu'elle est injectée par voie intraveineuse. En outre, on ne sait pas si la souche Ve6 de *L. muscarium* produit des métabolites importants sur le plan toxicologique.

Compte tenu de toutes les informations disponibles sur les propriétés biologiques de *L. muscarium*, de l'absence d'effet ou d'effets minimaux documentés chez les organismes terrestres non ciblés et de l'exposition minimale prévue dans l'environnement résultant de l'utilisation de l'insecticide biologique Mycotal en serre, les risques pour les oiseaux, les mammifères sauvages et les plantes terrestres sont acceptables lorsque le produit est utilisé conformément au mode d'emploi figurant sur l'étiquette. Bien qu'il puisse y avoir des effets nocifs sur les arthropodes utiles non ciblés présents dans les serres dans certaines circonstances, les mises en garde sur les étiquettes avisant les utilisateurs du danger potentiel pour les insectes utiles employés dans le cadre des programmes de lutte intégrée contre les ravageurs de serre devraient limiter ces effets. En outre, les formulants ne devraient pas contribuer à la toxicité potentielle du produit.

Les résultats d'essai sont résumés au tableau 2 de l'annexe I.

4.2.2 Effets sur les organismes aquatiques

Une étude a été soumise pour traiter des dangers de la souche Ve6 de *L. muscarium* pour les poissons d'eau douce. Des justifications scientifiques ont également été présentées pour appuyer la demande d'exemption concernant des essais supplémentaires sur ces organismes aquatiques non ciblés et en remplacement des essais sur les plantes aquatiques. Les justifications scientifiques étaient largement fondées sur le devenir et le comportement de *L. muscarium* dans l'environnement à la suite de l'utilisation en serre de l'insecticide biologique Mycotal (voir la section 4.1) et sur des recherches dans la littérature publiée, auxquelles on a ajouté des essais de détermination de la plage d'hôtes ou de l'efficacité, essais réalisés par le demandeur. Une recherche documentaire a été effectuée dans les bases de données AGRICOLA, AGRIS, BIOSIS Previews, CAB ABSTRACTS, EMBASE, MEDLINE, SCISEARCH et TOXFILE pour trouver des documents publiés jusqu'en 2018. La souche *Lecanicillium* et d'autres espèces/souches apparentées sur le plan phylogénétique au genre *Verticillium* ont été utilisées comme termes de recherche.

Dans une étude de toxicité de 96 heures, des truites arc-en-ciel (*Oncorhynchus mykiss*) ont été exposées à de l'eau contenant du VE6-58 SSP, un produit de qualité technique contenant la souche Ve6 de *L. muscarium*, à des concentrations initiales mesurées de $6,5$ à $7,9 \times 10^6$ (20 poissons), $1,6 \times 10^5$ (10 poissons) et $3,6 \times 10^4$ UFC/mL (10 poissons) dans l'eau, respectivement, dans des conditions statiques. Aucun poisson soumis à l'essai n'est mort, ni n'a présenté de signe d'effet nocif. La concentration initiale mesurée du principe actif pour les poissons exposés à la dose maximale satisfaisait à l'exigence d'une concentration estimée dans l'environnement (CEE) de $1\ 000\times$ d'après la dose d'application minimale, mais n'a pas satisfait à l'exigence lors de l'utilisation de la dose d'application maximale. Dans les conditions de l'essai, une mauvaise miscibilité de la suspension d'essai a été constatée dans l'eau des aquariums. En outre, la concentration réelle du principe actif à laquelle les poissons ont été exposés peut avoir été inférieure aux concentrations mesurées, car chaque échantillon a été soigneusement mélangé pour briser les agrégats cellulaires avant la mise sur plaque. Bien que cette étude ait été scientifiquement valide, elle ne répondait pas entièrement aux exigences des essais sur les poissons d'eau douce. L'étude a été menée en 1983 et il n'a pas été possible de confirmer que le procédé de fabrication utilisé pour produire la substance d'essai est le même que celui qui est actuellement proposé pour l'homologation de l'insecticide biologique technique Mycotal. En outre, l'étude ne portait pas sur l'exposition à la substance d'essai par voie alimentaire (incorporation dans les aliments des poissons). Enfin, la courte durée de l'étude n'a pas permis d'évaluer l'infectivité ou la pathogénicité.

Dans une justification scientifique présentée à l'appui d'une demande d'exemption concernant des essais supplémentaires sur les poissons, on n'a présenté aucun rapport tiré de la littérature scientifique faisant état d'effets toxicologiques, infectieux ou pathogènes nocifs chez les poissons d'eau douce à la suite d'une exposition à *L. muscarium* ou *V. lecanii*. On a cité un document de synthèse allemand qui mentionnait un cas d'infection de la vessie natatoire chez un saumon de l'Atlantique (*Salmo salar*) dans une pisciculture finlandaise, et qui a été attribuée à une espèce de *Lecanicillium*. Le taux de mortalité chez les saumons était de 0,1 %. Les auteurs du document de synthèse ont cependant noté que la pathogénicité n'a pas été confirmée selon le postulat de Koch.

Des essais visant à déterminer la plage des hôtes ont été soumis à l'appui d'une demande d'exemption concernant les essais sur les arthropodes aquatiques. Trois souches de *V. lecanii* commercialement fabriquées et formulées, y compris la souche CBS456.82 (synonyme de la souche Ve6 de *L. muscarium*) et la souche CBS455.82 (synonyme de la souche VE2), ont été mises en suspension dans l'eau du robinet à 0,25 g/L (la concentration de l'AMLA n'était pas indiquée). Vingt larves au 3^e stade de développement d'*Aedes aegypti* (moustique de la fièvre jaune) ont été ajoutées à chacune des solutions. Les solutions préparées avec la souche CBS455.82 de *V. lecanii* autoclavée ont servi de témoins. Après l'émergence, les insectes traités ont été maintenus à une température de 18 à 22 °C et à une humidité relative de 50 à 70 % ou > 90 %. On a déterminé la mortalité 5 jours et 28 jours après l'application des solutions d'essai. Aucun signe d'infection ou de mortalité n'a été relevé chez *A. aegypti*, à quelque niveau d'humidité que ce soit. Toutes les larves se sont métamorphosées et les adultes ont émergé au 28^e jour. Aucune infection ou mortalité n'a été observée chez les témoins autoclavés.

La justification scientifique présentée à l'appui d'une demande d'exemption pour les essais sur les plantes aquatiques s'appuyait sur les mêmes essais d'efficacité et la même étude qui ont été utilisés pour la demande d'exemption concernant les essais sur les plantes terrestres.

À la lumière de tous les renseignements disponibles sur la souche Ve6 de *L. muscarium*, de l'absence d'effets documentés chez les organismes aquatiques non ciblés et de l'exposition environnementale minimale prévue résultant de l'utilisation en serre de l'insecticide biologique Mycotal, les risques pour les organismes aquatiques sont acceptables. En outre, les formulants ne devraient pas contribuer à la toxicité potentielle de la préparation commerciale.

Les résultats d'essai sont résumés au tableau 2 de l'annexe I.

4.3 Rapports d'incidents concernant l'environnement

La souche Ve6 de *L. muscarium* est un nouveau principe actif en cours d'homologation au Canada. En date du 1^{er} mai 2020, aucun rapport d'incident n'avait été soumis à l'ARLA.

5.0 Valeur

Les résultats de deux essais ont démontré la répression des aleurodes sur les tomates en serre. Deux articles scientifiques ont également démontré une réduction du nombre d'aleurodes sur les tomates de serre lorsque l'insecticide biologique Mycotal est utilisé avec un agent de surface non ionique. L'insecticide biologique Mycotal est un nouveau produit non classique utilisé comme principe actif pour réprimer les aleurodes sur les tomates de serre. Une concentration de 1 g de produit/L a été proposée pour son utilisation sur les tomates de serre.

6.0 Considérations relatives à la politique sur les produits antiparasitaires

6.1 Considérations relatives à la Politique de gestion des substances toxiques

La Politique de gestion des substances toxiques a été élaborée par le gouvernement fédéral pour offrir des orientations sur la gestion des substances préoccupantes qui sont rejetées dans l'environnement. Elle prévoit la quasi-élimination des substances de la voie 1, substances qui répondent aux quatre critères précisés dans la politique, c'est-à-dire qu'elles sont persistantes (dans l'air, le sol, l'eau ou les sédiments), bioaccumulables, principalement anthropiques et toxiques, en sens de la *Loi canadienne sur la protection de l'environnement*. La *Loi sur les produits antiparasitaires* exige que la Politique de gestion des substances toxiques s'applique à l'évaluation des risques d'un produit.

Dans le cadre de l'examen, l'insecticide biologique technique Mycotal et l'insecticide biologique Mycotal ont été évalués conformément à la Directive d'homologation DIR99-03⁶ de l'ARLA et en fonction des critères de la voie 1. L'insecticide biologique technique Mycotal et l'insecticide biologique Mycotal ne répondent pas aux critères de la voie 1, car les principes actifs sont des microorganismes; ils ne sont donc pas assujettis aux critères utilisés pour définir la persistance, la bioaccumulation et les propriétés toxiques des produits antiparasitaires chimiques.

6.2 Formulants et contaminants soulevant des préoccupations pour la santé ou l'environnement

Dans le cadre de l'évaluation, les contaminants présents dans le produit de qualité technique ainsi que les formulants et contaminants présents dans les préparations commerciales sont recherchés dans la *Liste des formulants et des contaminants de produits antiparasitaires qui soulèvent des questions particulières en matière de santé ou d'environnement*.⁷ Cette liste, utilisée conformément à l'Avis d'intention NOI2005-01⁸ de l'ARLA, est fondée sur les politiques et la réglementation en vigueur, notamment les directives DIR99-03 et DIR2006-02⁹, et tient compte du *Règlement sur les substances appauvrissant la couche d'ozone* (1998) pris en application de la *Loi canadienne sur la protection de l'environnement* (substances désignées par le Protocole de Montréal). L'ARLA a tiré les conclusions suivantes :

- L'insecticide biologique Mycotal de qualité technique ne contient aucun produit de formulation ou contaminant inscrit sur la *Liste des formulants et des contaminants de produits antiparasitaires qui soulèvent des questions particulières en matière de santé ou d'environnement*. La préparation commerciale, l'insecticide biologique Mycotal, contient des allergènes, en l'occurrence le lait et le soja, produits qui figurent sur la *Liste des*

⁶ Directive d'homologation DIR99-03, *Stratégie de l'Agence de réglementation de la lutte antiparasitaire concernant la mise en œuvre de la Politique de gestion des substances toxiques*.

⁷ TR/2005-114.

⁸ Avis d'intention NOI2005-01, *Liste des formulants et des contaminants de produits antiparasitaires qui soulèvent des questions particulières en matière de santé ou d'environnement*.

⁹ Directive d'homologation DIR2006-02, *Politique sur les produits de formulation et document d'orientation sur sa mise en œuvre*.

formulants allergènes reconnus pour provoquer des réactions de type anaphylactique et qui soulèvent des questions particulières en matière de santé ou d'environnement dans les produits antiparasitaires.

L'utilisation de formulants dans les produits antiparasitaires homologués est évaluée de manière continue dans le cadre des initiatives de l'ARLA en matière de formulants et conformément à la Directive d'homologation DIR2006-02.

7.0 Résumé

7.1 Méthodes d'analyse du microorganisme, tel qu'il est fabriqué

Les données présentées aux fins de la caractérisation de l'insecticide biologique technique Mycotal et de l'insecticide biologique Mycotal étaient suffisantes pour évaluer les risques de ces produits pour la santé humaine et l'environnement. Le principe actif de qualité technique a été entièrement caractérisé et les spécifications du principe actif de qualité technique et de la préparation commerciale ont été étayées par l'analyse d'un nombre suffisant de lots. Tous les lots de l'insecticide biologique technique Mycotal doivent respecter les limites établies dans le document de l'OCDE sur les contaminants microbiens pour les produits antiparasitaires microbiens [ENV/JM/MONO(2011)43]. Les données de stabilité à l'entreposage indiquent que l'insecticide biologique Mycotal doit être entreposé à 4 °C, pour une période ne dépassant pas 6 mois.

7.2 Santé et sécurité humaines

Les études de toxicité, de pathogénicité et d'infectivité aiguës ainsi que les autres renseignements que le demandeur a fournis à l'appui de l'homologation de l'insecticide biologique technique Mycotal et de l'insecticide biologique Mycotal ont été jugés acceptables. À la lumière de tous les renseignements disponibles, la souche Ve6 de *L. muscarium* présente une faible toxicité par voie orale, par voie cutanée et par inhalation et n'est pas infectieuse par injection intraveineuse. L'étude du micronoyau n'a pas non plus mis en évidence d'effets génotoxiques. La préparation commerciale, l'insecticide biologique Mycotal, n'est pas un irritant cutané. L'AMLA est considéré comme étant un sensibilisant potentiel. Les mots indicateurs « SENSIBILISANT POTENTIEL » doivent figurer dans l'aire d'affichage principale de l'étiquette du principe actif de qualité technique, accompagnés des mises en garde suivantes : Peut entraîner une sensibilisation. Éviter tout contact avec la peau et les vêtements. Éviter d'inhaler ou de respirer la poussière et le brouillard de pulvérisation.

En l'absence de données, l'ARLA considère que tous les microorganismes sont faiblement irritants pour les yeux. Les mots indicateurs « ATTENTION - IRRITANT POUR LES YEUX » doivent figurer dans l'aire d'affichage principale de l'étiquette de la préparation commerciale, ainsi que les mises en garde suivantes : Peut irriter les yeux. Éviter tout contact avec les yeux.

Lorsqu'elles respectent le mode d'emploi qui figure sur l'étiquette, les personnes qui appliquent, mélangent, chargent et manipulent le produit peuvent être exposées à celui-ci par voie cutanée, par voie oculaire et par inhalation, la principale voie d'exposition étant la peau. Une sensibilité

respiratoire et cutanée pourrait éventuellement se développer à la suite d'expositions répétées au produit, car tous les microorganismes, y compris cet AMLA, contiennent des substances qui sont des sensibilisants potentiels. Par conséquent, les utilisateurs qui manipulent ou appliquent l'insecticide biologique Mycotal doivent porter des gants imperméables, un vêtement à manches longues, un pantalon long, des lunettes de protection ou un écran facial, un masque respiratoire avec filtre à particules approuvé par le NIOSH et muni d'un filtre N, R ou P, des chaussettes et des chaussures afin de réduire au minimum l'exposition et de protéger les personnes qui appliquent, mélangent, chargent et manipulent le produit et qui sont susceptibles d'y être exposées.

En outre, tous les travailleurs et les utilisateurs non protégés doivent attendre quatre heures avant de pénétrer dans les sites traités où l'insecticide biologique Mycotal a été appliqué ou tant que le produit pulvérisé n'est pas sec. Les mises en garde (prescrivant par exemple le port d'un équipement de protection individuelle) inscrites sur l'étiquette de la préparation commerciale et qui visent à atténuer l'exposition sont jugées adéquates pour protéger les personnes contre les risques découlant d'une exposition en milieu professionnel.

Aucun risque pour la santé de la population générale, y compris les nourrissons et les enfants, résultant d'une exposition occasionnelle et/ou d'une exposition par voie alimentaire chronique n'est à prévoir en raison du faible profil de toxicité et de pathogénicité de l'insecticide biologique technique Mycotal et de l'insecticide biologique Mycotal. Il n'est donc pas nécessaire de fixer une limite maximale de résidus aux termes de la *Loi sur les produits antiparasitaires* à l'égard de la souche Ve6 de *L. muscarium*.

7.3 Risques pour l'environnement

Les essais sur les organismes non ciblés et les justifications scientifiques fondées sur les données concernant le devenir et le comportement dans l'environnement ainsi que sur la documentation scientifique présentée à l'appui de la souche Ve6 de *L. muscarium* ont été jugés acceptables. L'utilisation en serre de l'insecticide biologique Mycotal contenant la souche Ve6 de *L. muscarium* ne devrait pas présenter de risque pour les organismes non ciblés si le mode d'emploi figurant sur l'étiquette est respecté. L'utilisation en serre de l'insecticide biologique Mycotal sur les plants de tomates ne devrait pas entraîner d'augmentation durable de la souche Ve6 de *L. muscarium* dans les milieux terrestres et aquatiques.

À titre de précaution générale, l'étiquette de la préparation commerciale devra comporter des mises en garde pour l'environnement visant à réduire la contamination des milieux aquatiques par l'utilisation de l'insecticide biologique Mycotal. L'étiquette de la préparation commerciale comprendra également une mise en garde concernant l'environnement et visant à réduire au minimum le risque pour les insectes utiles et les pollinisateurs utilisés dans les programmes de lutte intégrée contre les ravageurs de serre.

7.4 Valeur

Les renseignements sur la valeur qui ont été présentés appuient l'utilisation de l'insecticide biologique Mycotal pour la répression des aleurodes sur les tomates de serre lorsqu'il est appliqué à une concentration de 1 g produit/L. L'insecticide biologique Mycotal constituerait un nouvel organisme qui fournirait un nouveau principe actif non classique pour l'utilisation sur les tomates de serre.

8.0 Décision réglementaire proposée

Sous le régime de la *Loi sur les produits antiparasitaires*, l'ARLA de Santé Canada propose l'homologation à des fins de vente et d'utilisation de l'insecticide biologique technique Mycotal et de l'insecticide biologique Mycotal, contenant comme principe actif de qualité technique la souche Ve6 de *L. muscarium*, pour la répression des aleurodes sur les tomates de serre.

L'évaluation des renseignements scientifiques disponibles révèle que, dans les conditions d'utilisation approuvées, la valeur des produits antiparasitaires ainsi que les risques sanitaires et environnementaux qu'ils présentent sont acceptables.

Liste des abréviations

°C	degré Celsius
µg	microgramme
1/n	exposant de l'isotherme de Freundlich
p.a.	principe actif
DJA	dose journalière admissible
DARf	dose aiguë de référence
ARSEF	Agricultural Research Service Collection of Entomopathogenic Fungi
p.c.	poids corporel
CAS	Chemical Abstracts Service
CBS	Centraal Bureau Schimmelcultures
UFC	unités formatrices de colonie
cm	centimètre
ADN	acide désoxyribonucléique
TD ₅₀	temps de dissipation à 50 % (temps requis pour observer une diminution de 50 % de la concentration)
TD ₉₀	temps de dissipation à 90 % (temps requis pour observer une diminution de 90 % de la concentration)
CE ₂₅	concentration efficace pour 25 % de la population
CE ₅₀	concentration efficace pour 50 % de la population
CEE	concentration estimée dans l'environnement
DE ₂₅	dose efficace pour 25 % de la population
g	gramme
ha	hectare
DME	dose maximale d'essai
IUPAC	International Union of Pure and Applied Chemistry
kg	kilogramme
K _d	coefficient de partage sol-eau
K _F	coefficient d'absorption de Freundlich
kJ	kilojoule
km	kilomètre
K _{co}	coefficient de partage carbone organique-eau
K _{oe}	coefficient de partage <i>n</i> -octanol:eau
L	litre
CL ₅₀	concentration létale à 50 %
DL ₅₀	dose létale à 50 %
DMENO	dose minimale avec effet nocif observé
CMENO	concentration minimale avec effet nocif observé
NP	niveau préoccupant
LQ	limite de quantitation
DAL ₅₀	dose d'application létale à 50 %
m ²	mètre carré
mg	milligramme
ml	millilitre
mm	millimètre
CMM	cote moyenne maximale

CMI	cote maximale d'irritation
ME	marge d'exposition
AMLA	agent microbien de lutte antiparasitaire
LMR	limite maximale de résidus
SM	spectrométrie de masse
mW	milliwatt
DSENO	dose sans effet nocif observé
CSEO	concentration sans effet observé
DSEO	dose sans effet observé
OCDE	Organisation de coopération et de développement économiques
DAAR	délai d'attente avant la récolte
pKa	constant de dissociation
ARLA	Agence de réglementation de la lutte antiparasitaire
ppm	partie par million
EPI	équipement de protection individuelle
QR	quotient de risque
SC	concentré soluble
t _{1/2}	demi-vie
EPA	Environmental Protection Agency des États-Unis
v/v	dilution en volume

Annexe I Tableaux et figures

Tableau 1 Profil de toxicité des insecticides biologiques Mycotal technique et Mycotal

Étude, animal et n° de l'ARLA	Résultats de l'étude
<p>Étude de toxicité aiguë/ pathogénicité, voie orale, 21 jours</p> <p>Rat Sprague Dawley</p> <p>N° de l'ARLA 2868465</p>	<p>LD₅₀ par voie orale (mâles et femelles) supérieure à $1,2 \times 10^8$ spores de la souche Ve6 de <i>L. muscarium</i>/rat</p> <p>FAIBLE toxicité</p>
<p>Infectivité aiguë, injection intraveineuse, 21 jours</p> <p>Rat Sprague Dawley albinos</p> <p>N° de l'ARLA 3089729</p>	<p>Aucun effet pathogène ou infectieux avec une injection de $3,0 \times 10^9$ UFC /rat</p>
<p>Toxicité aiguë¹ par inhalation, 14 jours</p> <p>Rat Sprague Dawley</p> <p>N° de l'ARLA 2868466</p>	<p>CL₅₀ supérieure à 0,893 mg/L</p> <p>FAIBLE toxicité</p>
<p>Étude de toxicité subaiguë par inhalation, 28 jours¹</p> <p>Rat Sprague Dawley</p> <p>N° de l'ARLA 2868467</p>	<p>Aucune mortalité.</p> <p>Poumons gris, spongieux et/ou gonflés, et ganglions lymphatiques médiastinaux hypertrophiés, blancs et/ou fermes observés chez plusieurs mâles et femelles dans les groupes de dose de 0,01 et 0,1 mg/L.</p> <p>Des modifications liées au traitement ont été observées, indiquant une réponse inflammatoire dans les voies respiratoires et les ganglions lymphatiques médiastinaux dans tous les groupes traités.</p> <p>DSEO = 0,001 mg/L</p>
<p>Toxicité aiguë par voie cutanée, 14 jours, exposition pendant 24 h¹</p> <p>Lapin néo-zélandais blanc</p> <p>N° de l'ARLA 2942115</p>	<p>La DL₅₀ aiguë par voie cutanée était supérieure à 1×10^8 spores/animal chez les rats mâles et femelles.</p> <p>FAIBLE toxicité</p>
<p>Étude du micronoyau</p> <p>Rat Sprague Dawley</p> <p>N° de l'ARLA 2908573</p>	<p>Aucune toxicité ni augmentation du nombre de révertants n'ont été observées.</p> <p>Non génotoxique</p>

Tableau 2 Toxicité/pathogénicité de Mycotal pour les espèces non ciblées

Organisme	Exposition	Effets significatifs et commentaires
Organismes terrestres		
Vertébrés		
Oiseaux		
Cailles japonaises (<i>Coturnix japonica</i>), âgées de 28 jours	10 ⁸ spores/oiseau/jour pendant 5 jours (nominale) – exposition par voie orale Principe actif de qualité technique de Mycotal, contenant la souche Ve6 de <i>L. muscarium</i>	On n'a constaté aucune mortalité et aucun effet nocif. L'AMLA n'a pas été récupéré des tissus, du sang ou des matières fécales. On n'a constaté aucune anomalie à l'autopsie. La DL ₅₀ aiguë par voie orale sur 30 jours du principe actif de qualité technique Mycotal pour la caille a été supérieure à 10 ⁸ spores/oiseau/j pendant 5 jours. La DSEO sur 30 jours du principe actif de qualité technique Mycotal était également supérieure à 10 ⁸ spores/oiseau/j pendant 5 jours. FAIBLE TOXICITÉ à la dose administrée. Aucune conclusion ne peut être tirée quant à l'infectivité ou à la pathogénicité. ÉTUDE COMPLÉMENTAIRE
Invertébrés		
Arthropodes		
Abeilles domestiques (<i>Apis mellifera</i> L.), âgées de 22 à 32 jours	Doses mesurées de 1,30, 2,80, 6,02, 13,44, 28,17 et 112,32 µg p.a./abeille dans une solution de saccharose à 50 % dans l'eau – exposition par le régime alimentaire Poudre de spores de l'insecticide technique Mycotal	L'étude a été interrompue après 72 heures, car la mortalité dans le groupe témoin à 96 heures dépassait 10 %. La mortalité corrigée à 72 heures se situait entre 0 et 8,5 %, mais aucune relation dose-réponse n'a été observée. La DL ₅₀ aiguë par voie orale sur 72 heures de la poudre de spores de l'insecticide technique Mycotal pour les abeilles domestiques était supérieure à 112,32 µg p.a./abeille. La CSEO n'a pu être établie. FAIBLE TOXICITÉ dans les conditions de l'étude. Aucune conclusion ne peut être tirée quant à la pathogénicité. ÉTUDE COMPLÉMENTAIRE
Abeilles domestiques (<i>Apis mellifera</i> L.), âgées de 22 à 32 jours	100 µg p.a./abeille dans 4 µL d'eau – exposition par contact Poudre de spores de l'insecticide technique Mycotal	L'étude a été interrompue après 72 heures, car la mortalité dans le groupe témoin à 96 heures dépassait 10 %. À 72 heures, la mortalité dans les groupes traités (6 %) ne dépassait pas la mortalité dans les groupes témoins (8 %). Aucune mortalité liée au traitement n'a été constatée. La DL ₅₀ aiguë par contact sur 72 heures de la poudre de spores de l'insecticide technique Mycotal pour les abeilles domestiques était supérieure à 100 µg p.a./abeille. FAIBLE TOXICITÉ dans les conditions de l'étude. Aucune conclusion ne peut être tirée quant à la

Organisme	Exposition	Effets significatifs et commentaires
		<p>pathogénicité.</p> <p>ÉTUDE COMPLÉMENTAIRE</p>
Organismes aquatiques		
Vertébrés		
Poissons		
<p>Truites arc-en-ciel (<i>Oncorhynchus mykiss</i>), âgées de moins d'un an</p>	<p>Exposition en milieu aquatique : $3,6 \times 10^4$, $1,6 \times 10^5$ et $6,5$ à $7,9 \times 10^6$ CFU/ml (mesurée)</p> <p>Conditions statiques avec renouvellement 96 heures</p> <p>VE6-58 SSP (synonyme de principe actif de qualité technique Mycotal)</p>	<p>Aucune mortalité ou aucun effet nocif n'a été observé chez les poissons, à quelque dose que ce soit.</p> <p>Les valeurs CL_{50} et CE_{50} liées à une exposition pendant 96 heures en milieu aquatique à VE6-58 SSP pour les poissons étaient supérieures à $6,5 - 7,9 \times 10^6$ UFC/ml. La CSEO était de $6,5 - 7,9 \times 10^6$ UFC/mL.</p> <p>FAIBLE TOXICITÉ dans les conditions de l'étude. Aucune conclusion ne peut être tirée concernant l'infectivité ou la pathogénicité.</p> <p>ÉTUDE COMPLÉMENTAIRE</p>

Références

A. Liste des études et des renseignements présentés par le titulaire

1.0 Caractéristiques chimiques

Numéro de document de l'ARLA	Référence
2868216	2018, <i>Lecanicillium muscarium</i> strain 19.79 Mycotal Technical - Condensed Comprehensive Data Summary (Part M1), DACO: M1.1,M1.2,M1.3
2868239	Domsch, K.H., Gams, W., Anderson, T., 1980, Compendium of the soil fungi., DACO: M2.7.1
2868240	Sugimoto, M., Koike, M., Hiyama, N., Nagao, H., 2002, Genetic, morphological, and virulence characterization of the entomopathogenic fungus <i>Verticillium lecanii</i> ., DACO: M2.7.1
2868242	Zare, R., Gams, W., 2001, A revision of <i>Verticillium</i> section Prostrata. IV. The genera <i>Lecanicillium</i> and <i>Simplicillium</i> gen. nov., DACO: M2.7.1
2868243	Samson, R.A., Hoekstra, E.S., Van Oorschot, C.A.N., 1984, Introduction to food-borne fungi, DACO: M2.7.1,M2.7.2
2868244	Ekbom, B.S., 1979, Investigations on the potential of a parasitic fungus (<i>Verticillium lecanii</i>) for biological control of the greenhouse whitefly (<i>Trialeurodes vaporariorum</i>)., DACO: M2.7.1,M2.7.2,M9.5
2868247	Beerling, E.A.M., Joosten, N.N., Tolsma, J., Fransen, J.J., 1998, Studies of entomopathogenic fungi for control of thrips and three aphid species on glasshouse ornamentals - Final report of participant 04., DACO: M2.7.2
2868248	Bethke, J.A., Parrella, M.P., 1989, Compatibility of the aphid fungus <i>Cephalosporium lecanii</i> with the leafminer parasite, <i>Diglyphus beginii</i> (Hymenoptera: Eulophidae)., DACO: M2.7.2
2868249	Bidochka, M.J., St Legar, R.J., Stuart, A., Gowanlock, K., 1999, Nuclear rDNA phylogeny in the fungal genus <i>Verticillium</i> and its relationship to insect and plant virulence, extracellular protease and carbohydrases., DACO: M2.7.2
2868250	Brady, B.L.K., 1979, <i>Verticillium lecanii</i> . CMI Description of pathogenic fungi and bacteria, No 610., DACO: M2.7.2
2868251	Butt, T.M., Skrobek, A., Wang, C., Shah, F.A., Ben El Hadj, N., 2004, RAFBCA Partner 01, Final Report 01.11.01-31.10.04, DACO: M2.7.2
2868252	Claydon, N., Grove, J.F., 1981, Insecticidal secondary metabolic products from the entomogenous fungus <i>Verticillium lecanii</i> , DACO: M2.7.2
2868253	Darke, S., Knowelden, J., Lacey, J., Ward, A. M., 1976, Respiratory disease of workers harvesting grain, DACO: M2.7.2
2868254	Engelhart, S., Sennekamp, J., Pleischl, S., Exner, M., 2000, Workplace-related complaints due to exposure to contaminated humidifier water - Hypersensitivity pneumonitis with antibodies to <i>Verticillium lecanii</i> ., DACO: M2.7.2
2868255	Gams, W., Van Zaayen, A., 1982, Contribution to the taxonomy and pathogenicity of fungicolous <i>Verticillium</i> species., DACO: M2.7.2

- 2868256 Gindin, G., Barash, I., Harari, N., Raccach, B., 1994, Effect of endotoxic compounds isolated from *Verticillium lecanii* on the Sweetpotato Whitefly, *Bemisia tabaci*., DACO: M2.7.2
- 2868257 Grandesso, S., Amici, G., Bocci, C., Mottola A., 1996, Fungal peritonitis in peritoneal dialysis: a critical review of seven cases., DACO: M2.7.2
- 2868258 Hall, R.A., 1975, Aphid control by a fungus, *Verticillium lecanii*, within an integrated programme for Chrysanthemum pests and diseases., DACO: M2.7.2
- 2868259 Hall, R.A., 1982, Control of whitefly, *Trialeurodes vaporariorum* and cotton aphid, *Aphis gossypii* in glasshouses by two isolates of the fungus, *Verticillium lecanii*., DACO: M2.7.2
- 2868260 Hall, R.A., 1980, Effect of repeated subculturing on agar and passaging through an insect host on pathogenicity, morphology and growth rate of *Verticillium lecanii*., DACO: M2.7.2
- 2868261 Hall, R.A., 1984, Epizootic potential for aphids of different isolates of the fungus, *Verticillium lecanii*., DACO: M2.7.2
- 2868262 Hall, R.A., 1981, The fungus *Verticillium lecanii* as a microbial insecticide against aphids and scales., DACO: M2.7.2
- 2868263 Hanssler, G., Hermanns, M., 1981, *Verticillium lecanii* as a parasite on cysts of Heterodera schachtii., DACO: M2.7.2
- 2868264 Hill, R.A., Lacey, J., 1983, The microflora of ripening barley grain and the effects of pre-harvest fungicide applications., DACO: M2.7.2
- 2868265 Jackson, C.W., J.B. Heale, Hall, R.A., 1985, Traits associated with virulence to the aphid *Macrosiphoniella sanborni* in eighteen isolates of *Verticillium lecanii*., DACO: M2.7.2
- 2868266 Jun, Y., Bridge, P.D., Evans, H.C., 1991, Integrated Approach to the taxonomy of the genus *Verticillium*., DACO: M2.7.2
- 2868266 Jun, Y., Bridge, P.D., Evans, H.C., 1991, Integrated Approach to the taxonomy of the genus *Verticillium*., DACO: M2.7.2
- 2868267 Kanagaratnam, P., Hall, R.A., Burges, H.D., 1982, Control of glasshouse whitefly, *Trialeurodes vaporariorum*, by an 'aphid' strain of the fungus *Verticillium lecanii*., DACO: M2.7.2
- 2868268 Kanaoka, M., Isogai, A., Murakoshi, S., Ichinoe, M., Suzuki, A., Tamura, S., 1978, Bassianolide, a new insecticidal cyclodepsipeptide from *Beauveria bassiana* and *Verticillium lecanii*., DACO: M2.7.2
- 2868269 Lo, P.L., Chapman, R.B., 1998, The role of parasitoids and entomopathogenic fungi in mortality of third-instar and adult *Ceroplastes destructor* and *C. sinensis* (Hemiptera: Coccidae: Ceroplastinae) on citrus in New Zealand., DACO: M2.7.2
- 2868271 Murakoshi, S., Ichinoe, M., Suzuki, A., Kanaoka, M., Isogai, A., Tamura, S., 1978, Presence of toxic substance in fungus bodies of the entomopathogenic fungi, *Beauveria bassiana* and *Verticillium lecanii*., DACO: M2.7.2
- 2868274 Rombach, M.C., Gillespie, A.T., 1988, Entomogenous Hyphomycetes for insect and mite control on greenhouse crops., DACO: M2.7.2
- 2868275 Schreiter, G., Butt, T.M., Beckett, A., Vestergaard, S., Moritz, G., 1994, Invasion and development of *Verticillium lecanii* in the western flower thrips, *Frankliniella occidentalis*., DACO: M2.7.2
- 2868276 Sitch, J.C., Jackson, C.W., 1997, Pre-penetration events affecting host specificity of *Verticillium lecanii*., DACO: M2.7.2

- 2868277 Soman, A.G., Gloer, J.B., Angawi, R.F., Wicklow, D.T., Dowd, P.F., 2001, Vertilecanins: New phenopicolinic acid analogues from *Verticillium lecanii*., DACO: M2.7.2
- 2868278 Spencer, D.M., Atkey, P.T., 1981, Parasitic effect of *Verticillium lecanii* on two rust fungi., DACO: M2.7.2
- 2868279 Steenberg, T., Humber, R.A., 1999, Entomopathogenic potential of *Verticillium* and *Acremonium* species (Deuteromycotina: Hyphomycetes)., DACO: M2.7.2
- 2868280 Uma, N.U., Taylor, G.S., 1987, Parasitism of leek rust urediniospores by four fungi., DACO: M2.7.2
- 2868281 Walter, C., Caspersen, G., Hirte, W.F., 1988, Light- and electron microscopic investigations on the infection of the whitefly (*Trialeurodes vaporariorum* Westw.) with *Verticillium lecanii* Zimm., DACO: M2.7.2
- 2868282 Shin, J.Y., Kim, H.M., Hong, J.W., 2002, Keratitis caused by *Verticillium* species., DACO: M2.7.2,M4.6
- 2868283 Das, D.K., Grover, R.K., Chachra, K.L., Bhatt, N.C., Bibhabati M., 1997, Fine needle aspiration cytology diagnosis of a fungal lesion of the *Verticillium* species. A case report., DACO: M2.7.2,M4.9
- 2868284 Vey, A., Ben El Hadj, N., Lange, C., 2003, RAFBCA Overall Summary - Partner 3 (INRA, FRANCE), DACO: M2.7.2,M4.9
- 2868285 Flexner, J.L., Lighthart, B., Croft, B.A., 1986, The effects of microbial pesticides on non-target, beneficial arthropods., DACO: M2.7.2,M9.5.1
- 2868286 Sterk, G., Hassan, S.A., Baillod, M., Bakker, F., Bigler, F., Blümel, S., Bogenschütz, H., Boller, E., Bromand, B., Brun, J., Calis, J.N.M., Coremans-Pelseneer, J., Duso, C., Garrido, A., Grove, A., Heimbach, U., Hokkanen, H., Jacas, J., Lewis, G., Moreth, L., Polgar, L., Roversti, L., Samsøe-Petersen, B., Sauphanor, L., Schaub, L., Stäubli, A., Tuset, J.J., Vainio, A., Van De Veire, M., Viggiani, G., Viñuela E., Vogt, H., 1999, Results of the seventh joint pesticide testing programme carried out by the OIBC/WPRS-Working Group 'Pesticides and Beneficial Organisms', DACO: M2.7.2,M9.5.1
- 2868289 Kouvelis, V. N., Sialakouma, A., Typas, M.A., 2008, Mitochondrial gene sequences alone or combined with ITS region sequences provide firm molecular criteria for the classification of *Lecanicillium* species., DACO: M2.8
- 2868411 Bethke, J.A., Parrella, M.P., 1989, Compatibility of the aphid fungus *Cephalosporium lecanii* with the leafminer parasite, *Diglyphus beginii* (Hymenoptera: Eulophidae)., DACO: M2.7.2
- 2868412 Bidochka, M.J., St Legar, R.J., Stuart, A., Gowanlock, K., 1999, Nuclear rDNA phylogeny in the fungal genus *Verticillium* and its relationship to insect and plant virulence, extracellular protease and carbohydrases., DACO: M2.7.2
- 2868413 Brady, B.L.K., 1979, *Verticillium lecanii*. CMI Description of pathogenic fungi and bacteria, No 610., DACO: M2.7.2
- 2868414 Butt, T.M., Skrobek, A., Wang, C., Shah, F.A., Ben El Hadj, N., 2004, RAFBCA Partner 01, Final Report 01.11.01-31.10.04, DACO: M2.7.2
- 2868416 Claydon, N., Grove, J.F., 1981, Insecticidal secondary metabolic products from the entomogenous fungus *Verticillium lecanii*, DACO: M2.7.2
- 2868417 Darke, S., Knowelden, J., Lacey, J., Ward, A. M., 1976, Respiratory disease of workers harvesting grain, DACO: M2.7.2

- 2868418 Engelhart, S., Sennekamp, J., Pleischl, S., Exner, M., 2000, Workplace-related complaints due to exposure to contaminated humidifier water - Hypersensitivity pneumonitis with antibodies to *Verticillium lecanii*., DACO: M2.7.2
- 2868419 Gams, W., Van Zaayen, A., 1982, Contribution to the taxonomy and pathogenicity of fungicolous *Verticillium* species., DACO: M2.7.2
- 2868420 Gindin, G., Barash, I., Harari, N., Raccach, B., 1994, Effect of endotoxic compounds isolated from *Verticillium lecanii* on the Sweetpotato Whitefly, *Bemisia tabaci*., DACO: M2.7.2
- 2868421 Grandesso, S., Amici, G., Bocci, C., Mottola A., 1996, Fungal peritonitis in peritoneal dialysis: a critical review of seven cases., DACO: M2.7.2
- 2868422 Hall, R.A., 1975, Aphid control by a fungus, *Verticillium lecanii*, within an integrated programme for Chrysanthemum pests and diseases., DACO: M2.7.2
- 2868423 Hall, R.A., 1982, Control of whitefly, *Trialeurodes vaporariorum* and cotton aphid, *Aphis gossypii* in glasshouses by two isolates of the fungus, *Verticillium lecanii*., DACO: M2.7.2
- 2868424 Hall, R.A., 1980, Effect of repeated subculturing on agar and passaging through an insect host on pathogenicity, morphology and growth rate of *Verticillium lecanii*., DACO: M2.7.2
- 2868425 Hall, R.A., 1984, Epizootic potential for aphids of different isolates of the fungus, *Verticillium lecanii*., DACO: M2.7.2
- 2868426 Hall, R.A., 1981, The fungus *Verticillium lecanii* as a microbial insecticide against aphids and scales., DACO: M2.7.2
- 2868444 Walter, C., Caspersen, G., Hirte, W.F., 1988, Light- and electron microscopic investigations on the infection of the whitefly (*Trialeurodes vaporariorum* Westw.) with *Verticillium lecanii* Zimm., DACO: M2.7.2
- 2868445 Shin, J.Y., Kim, H.M., Hong, J.W., 2002, Keratitis caused by *Verticillium* species., DACO: M2.7.2,M4.6
- 2868452 Kouvelis, V. N., Sialakouma, A., Typas, M.A., 2008, Mitochondrial gene sequences alone or combined with ITS region sequences provide firm molecular criteria for the classification of *Lecanicillium* species., DACO: M2.8
- 2868460 2016, Mycotal Product Specification, DACO: M2.12,M2.9.1 CBI
- 3089723 Butt, T.M., Skrobek, A., Wang, C., Shah, F.A., Ben El Hadj, N., 2004, RAFBCA Partner 01: University of Wales, Swansea, UK - Final Report: 01.11.01-31.10.04, DACO: M2.10.3,M2.7.2,M2.9.3
- 3089724 Pfau, W., 2016, Literature review on *Lecanicillium muscarium* Ve6 (19-79): Toxicology, DACO: M2.10.3,M2.7.2,M2.9.3
- 3089726 Roll, D.M. et al., 2009, The Lecanincoles, Nonsteroidal Progestrins from the Terrestrial Fungus *Verticillium lecanii* 6144, DACO: M2.10.3,M2.7.2,M2.9.3

2.0 Santé humaine et animale

- 2868301 Baelum, J., Larsen,P., Sigsgaard, T., Doekes, G., 2003, Sensitization and Inflammatory Lung Diseases Among Greenhouse Workers Exposed to Microbiological Pesticides., DACO: M4.6
- 2868302 Doekes, G., Larsen, P., Sigsgaard, T., Baelum, J., 2004, IgE Sensitization to Bacterial and Fungal Biopesticides in a Cohort of Danish Greenhouse Workers: The BIOGART Study., DACO: M4.6

- 2868304 Eaton, K.K., Hennessy, T.J., Snodin, D.J., McNulty, D.W., 1986, *Verticillium lecanii* Allergological and toxicological studies on work exposed personnel., DACO: M4.6
- 2868305 Kouvelis, V.N., Wang, C.S., Skrobek, A., Tavoularis, S.N., Butt, T.M., Typas, N.A., 2004, Ames and Vitotox Tests: An Ideal Combination to determine Mutagenicity and Genotoxicity. RAFBCA., DACO: M4.8
- 2868309 Typas, M.A., 2004, Partner 08: RAFBCA Final Report: 01.11.01-31.10.04., DACO: M4.8
- 2868473 Baelum, J., Larsen, P., Sigsgaard, T., Doekes, G., 2003, Sensitization and Inflammatory Lung Diseases Among Greenhouse Workers Exposed to Microbiological Pesticides., DACO: M4.6
- 2868474 Doekes, G., Larsen, P., Sigsgaard, T., Baelum, J., 2004, IgE Sensitization to Bacterial and Fungal Biopesticides in a Cohort of Danish Greenhouse Workers: The BIOGART Study., DACO: M4.6
- 2908549 2018, Mycotal Biological Insecticide - Condensed Comprehensive Data Summary (Part M4), DACO: M4.2, M4.2.2, M4.2.3, M4.3, M4.3.2, M4.3.3, M4.4, M4.5, M4.5.2, M4.6, M4.8, M4.9
- 2908551 2008, Draft Assessment Report (DAR) - Volume 3, Annex B, part 2, B.6, DACO: M4.2.1, M4.3.1, M4.9
- 2908553 1982, Acute Toxicity and Infectivity Study in Rats., DACO: M4.2.2
- 2908555 2000, A Single Dose Toxicity Study of Mycotal TGAI Administered Orally to Rats., DACO: M4.2.2
- 2908557 1990, Acute (4-hour) inhalation toxicity study with Mycotal in rats., DACO: M4.2.3
- 2908559 Lina, B.A.R., Arts, J.H.E., Woutersen, R.A., 1991, Sub-acute (28-day) inhalation toxicity of Mycotal in rats., DACO: M4.2.3
- 2908561 1982, single Dose intraperitoneal Injection Studies in Mice and Rats with 7 Day Observation Period., DACO: M4.3.3
- 2908563 1982, Single Dose Intraperitoneal Injection Study in Mice With 14 Day Observation Period., DACO: M4.3.3
- 2908565 2001, A Single Dermal Dose Toxicity Study of Mycotal Wettable Powder in Rabbits., DACO: M4.4
- 2908567 1982, Primary Skin Irritation Study., DACO: M4.5.2
- 2908569 1982, Delayed Dermal Sensitization Study in the Guinea Pig., DACO: M4.5.2
- 2908571 1982, Investigation on human subjects exposed to *Verticillium lecanii*., DACO: M4.6
- 2908573 2004, Mutagenicity study using the micronucleus test in the rat with *Verticillium lecanii*, strain Ve6, DACO: M4.8
- 2908575 2002, Mutagenicity test on *Salmonella typhimurium* HIS using B.N. Ames's technique with *Verticillium lecanii*., DACO: M4.8
- 2908577 2005, Studies on the production of destruxins by the biological insecticides Mycotal and Vertalec., DACO: M4.8
- 2908579 1982, Eye Irritation Study., DACO: M4.9
- 2908581 2008, Draft Assessment Report (DAR)- Volume 3, Annex B, part 3, B.7, DACO: M7.0

- 2908608 2018, Mycotol Biological Insecticide - Condensed Comprehensive Data Summary (Part M4), DACO: M4.2, M4.2.2, M4.2.3, M4.3, M4.3.2, M4.3.3, M4.4, M4.5, M4.5.2, M4.6, M4.8, M4.9
- 2908610 2008, Draft Assessment Report (DAR) - Volume 3, Annex B, part 2, B.6, DACO: M4.2.1, M4.3.1, M4.9
- 2908612 1982, Acute Toxicity and Infectivity Study in Rats., DACO: M4.2.2
- 2908614 2000, A Single Dose Toxicity Study of Mycotol TGAI Administered Orally to Rats., DACO: M4.2.2
- 2908616 1990, Acute (4-hour) inhalation toxicity study with Mycotol in rats., DACO: M4.2.3
- 2908618 Lina, B.A.R., Arts, J.H.E., Woutersen, R.A., 1991, Sub-acute (28-day) inhalation toxicity of Mycotol in rats., DACO: M4.2.3
- 2908620 1982, Single Dose Intraperitoneal Injection Studies in Mice and Rats with 7 Day Observation Period., DACO: M4.3.3
- 2908622 1982, Single Dose Intraperitoneal Injection Study in Mice With 14 Day Observation Period., DACO: M4.3.3
- 2908624 2001, A Single Dermal Dose Toxicity Study of Mycotol Wettable Powder in Rabbits., DACO: M4.4
- 2908626 1982, Primary Skin Irritation Study., DACO: M4.5.2
- 2908628 1982, Delayed Dermal Sensitization Study in the Guinea Pig., DACO: M4.5.2
- 2908630 1982, Investigation on human subjects exposed to *Verticillium lecanii*., DACO: M4.6
- 2908640 2008, Draft Assessment Report (DAR)- Volume 3, Annex B, part 3, B.7, DACO: M7.0
- 2937272 1990, Determination of fungal spores in cucumber greenhouses for and after application of Mycotol., DACO: M8.0
- 2937281 Hu, Q., Li, F., Zhang, Y., 2016, Review Article: Risks of Mycotoxins from Mycoinsecticides to Humans, DACO: M4.0, M9.0
- 3089717 Shinde, S.V. et al., 2010, "*Lecanicillium lecanii* (Zimm.) Zare and Games" an important biocontrol agent for the management of insect pests - a review, DACO: M2.7, M4.2.2, M4.2.3, M4.3.3, M4.9
- 3089718 Yeo, H., Pell, J.K., Alderson, P.G., Clark, S.J., Pye, B.J., 2003, Laboratory evaluation of temperature effects on the germination and growth of entomopathogenic fungi and on their pathogenicity to two aphid species, DACO: M2.7, M4.2.2, M4.2.3, M4.3.3, M4.9
- 3089719 2020, Mycotol temperature range in vitro, DACO: M2.7, M4.2.2, M4.2.3, M4.3.3, M4.9
- 3089721 2007, Genetic stability of *Verticillium lecanii* strain Ve6 and factors affecting it, DACO: M2.7, M4.2.2, M4.2.3, M4.3.3, M4.9
- 3089727 2020, *L. muscarium* Deficiency Response, DACO: M2.10.3, M2.7.2, M2.9.3, M4.2.2, M4.2.3, M4.3.3, M4.9
- 3089729 2000, A Single Dose Toxicity Study of Mycotol TGAI Administered Intravenously to Rats, DACO: M4.3.2
- 3089740 2020, Mycotol Deficiency Response, DACO: M2.10.3, M4.4

3.0 Environnement

Numéro de document de l'ARLA	Référence
2868245	2000, The effects of <i>Verticillium lecanii</i> on non-target arthropods., DACO: M2.7.1,M2.7.2,M9.5 CBI
2868250	Brady, B.L.K., 1979, <i>Verticillium lecanii</i> . CMI Description of pathogenic fungi and bacteria, No 610., DACO: M2.7.2
2868262	Hall, R.A., 1981, The fungus <i>Verticillium lecanii</i> as a microbial insecticide against aphids and scales., DACO: M2.7.2
2868285	Flexner, J.L., Lighthart, B., Croft, B.A., 1986, The effects of microbial pesticides on non-target, beneficial arthropods., DACO: M2.7.2,M9.5.1
2868286	Sterk, G., Hassan, S.A., Baillod, M., Bakker, F., Bigler, F., Blümel, S., Bogenschütz, H., Boller, E., Bromand, B., Brun, J., Calis, J.N.M., Coremans-Pelseneer, J., Duso, C., Garrido, A., Grove, A., Heimbach, U., Hokkanen, H., Jacas, J., Lewis, G., Moreth, L. Polgar, L. Roversti, L. Samsoe-Petersen, B., Sauphanor, L., Schaub, L., Stäubli, A., Tuset, J.J., Vainio, A., Van De Veire, M., Viggiani, G., Viñuela E., Vogt, H., 1999, Results of the seventh joint pesticide testing programme carried out by the OIBC/WPRS-Working Group 'Pesticides and Beneficial Organisms', DACO: M2.7.2,M9.5.1
2868287	1998, Impact of the fungi <i>Verticillium</i> and <i>Trichoderma</i> on adult bumblebees and bumblebee brood., DACO: M2.7.2,M9.5.1 CBI
2868317	Burges, H.D., 1981, Microbial Control of Pests and Plant Diseases 1970-1980., DACO: M9.2.2,M9.4.1,M9.5.1,M9.5.2,M9.8.1,M9.8.2
2868318	Copping, L.G., 2004, The Manual of Biocontrol Agents, 3rd Edition, DACO: M9.2.2,M9.4.1,M9.5.1,M9.5.2,M9.8.1,M9.8.2
2868322	Schuler, T., Hommes, M., Plate, H.P., Zimmermann, G., 1991, <i>Verticillium lecanii</i> (Zimmermann) Viegas (Hyphomycetales: Moniliaceae): Geschichte, Systematik, Verbreitung, Biologie und Anwendung im Pflanzenschutz., DACO: M9.4.2,M9.5.1
2868323	Beerling, E.A.M. and van den Berg, D., 2003, Evaluation of two microbial pesticides for integrated thrips control in glasshouse chrysanthemums., DACO: M9.5.1
2868326	Samson, R.A. and Rombach, M.C., 1985, Biology of the fungi <i>Verticillium</i> and <i>Aschersonia</i> ., DACO: M9.5.1
2868327	Sitch, J.C. and Jackson, C.W., 1997, Pre-penetration events affecting host specificity of <i>Verticillium lecanii</i> ., DACO: M9.5.1
2908648	2018, Mycotal Biological Insecticide - A Condensed Comprehensive Data Summary (Part 9), DACO: M9.2, M9.2.1, M9.2.2, M9.3, M9.4, M9.4.1, M9.4.2, M9.5, M9.5.2, M9.6, M9.7, M9.8, M9.8.1, M9.8.2, M9.9
2908649	2018, Mycotal Biological Insecticide - A Condensed Comprehensive Data Summary (Part 9), DACO: M9.2, M9.2.1, M9.2.2, M9.3, M9.4, M9.4.1, M9.4.2, M9.5, M9.5.2, M9.6, M9.7, M9.8, M9.8.1, M9.8.2, M9.9 CBI
2908650	1998, An acute toxicity study of Mycotal TGAI administered orally to Japanese quail., DACO: M9.2.1

- 2908652 1998, An acute toxicity study of Mycotol TGAI administered orally to Japanese quail., DACO: M9.2.1 CBI
- 2908653 1983, The acute toxicity of Ve6-58 SSP to Rainbow trout (*Salmo gairdneri*)., DACO: M9.4.1
- 2908654 1983, The acute toxicity of Ve6-58 SSP to Rainbow trout (*Salmo gairdneri*)., DACO: M9.4.1 CBI
- 2908657 2000, Assessment of Side Effects of *Verticillium lecanii* to the Honey Bee, *Apis mellifera* L. in the Laboratory., DACO: M10.5,M9.5.1
- 2908658 2000, Assessment of Side Effects of *Verticillium lecanii* to the Honey Bee, *Apis mellifera* L. in the Laboratory., DACO: M10.5,M9.5.1 CBI
- 2908659 1980, Non-target insect test for toxicity/pathogenicity., DACO: M9.5.1,M9.5.2
- 2908660 1980, Non-target insect test for toxicity/pathogenicity., DACO: M9.5.1,M9.5.2 CBI
- 2908661 1983, *Verticillium lecanii* acute immobilization of Daphnia test., DACO: M9.5.2
- 2908662 1983, *Verticillium lecanii* acute immobilization of Daphnia test., DACO: M9.5.2 CBI
- 2937259 Gottlich, E., Van der Lubbe, W., Lange, B., Fiedler, S., Melchert, I., Reifenrath, M., Flemming, H.C., De Hoog, S., 2002, Fungal flora in groundwater-derived public drinking water, DACO: M8.0
- 2937263 1983, *Verticillium lecanii* degradation and percolation in soil., DACO: M8.0
- 2937264 1983, *Verticillium lecanii* degradation and percolation in soil., DACO: M8.0 CBI
- 2937271 Rombach, M.C., Gillespie, A.T. 1988. Entomogenous Hyphomycetes for insect and mite control on greenhouse crops. DACO: M8.0
- 2937275 Wickert, K.L., 2016, Biology, ecology and efficacy of *Lecanicillium muscarium* as a potential fungal biocontrol of the invasive hemlock woolly adelgid (*Adelges tsugae*) on eastern hemlock (*Tsuga canadensis*), DACO: M8.0
- 2937276 Wurzbacher, C.M., Bärlocher, F., Grossart, H.P., 2010, Fungi in lake ecosystems, DACO: M8.0
- 2937277 Xie, M., Zhang, Y.J., Peng, D.L., Zhou, J., Zhang, X.L., Zhang, Z.R., Zhao, J.J., Wu, Y.H., 2015, Persistence and Viability of *Lecanicillium lecanii* in Chinese Agricultural Soil, DACO: M8.0
- 2937279 2018, Environmental Fate Summary - *L. muscarium*, DACO: M8.1
- 2937280 Ren, S.X., Ali, S., Huang, Z., Wu, J.H., 2010, *Lecanicillium muscarium* as microbial insecticide against whitefly and its interaction with other natural enemies, DACO: M9.0
- 2937282 2018, Environmental Toxicology Updated Literature Search Summary - *L. muscarium*, DACO: M9.1
- 2937289 Hall, R.A., 1982, Control of whitefly, *Trialeurodes vaporariorum* and cotton aphid, *Aphis gossypii* in glasshouse; by two isolates of the fungus, *Verticillium lecanii*, DACO: M9.5
- 2937299 Gerritsen, L., Cornelissen, B., 2006, Biological control of varroa with the help of fungi (translation), DACO: M9.5.1
- 2937305 Kanagaratnam, P., Hall, R.A., Burges, H.D., Jarrett, P., 1981, Annual report /

- 2937307 Glasshouse Crops Research Institute., DACO: M8.0,M9.5.1
Askary, H., Benhamou, N., Brodeur, J., 1997, Ultrastructural and cytochemical investigations of the antagonistic effect of *Verticillium lecanii* on cucumber powdery mildew, DACO: M9.8.2
- 2937318 2000, Behaviour of *Verticillium lecanii* spores in water, DACO: M8.0, M9.8.2
- 2937319 2000, Behaviour of *Verticillium lecanii* spores in water, DACO: M8.0, M9.8.2 CBI
- 3081214 2020, PMRA Clarification response - Jan 29, 2020, DACO: M2.7.1, M9.2.1 CBI
- 3109145 2020, Response to PMRA Clarifications dated March 30, 2020 and April 1, 2020, DACO: M9.4.1, M9.5.1

4.0 Valeur

Numéro de document de l'ARLA	Référence
2868347	2002, Determination of Efficacy of Mycotal against Whitefly in Tomato, 1 Greenhouse Site in Spain 2001 - TOM1, DACO: M10.2.2
2908543	2013, Study comparing the efficacy of formulations of entomopathogenic fungi on whitefly (<i>Bemisia tabaci</i>) - CUC2, DACO: M10.2.2
2868348	2012, Efficacy of Mycotal (<i>Lecanicillium muscarium</i>) formulations on the whitefly (<i>Bemisia tabaci</i>). Semifield trial. - TOM8, DACO: M10.2.2
2868351	2001, Field trial against the whitefly <i>Bemisia tabaci</i> (Gennadius) - TOM14, DACO: M10.2.2
2868352	2002, Field trial against the whitefly <i>Bemisia tabaci</i> (Gennadius) - TOM15, DACO: M10.2.2
2868345	2017, Value Summary - Mycotal, DACO: M10.1
2868346	2017, Data Summary Tables - Mycotal, DACO: M10.1
2868355	Cuthbertson, A.G.S, Blackburn, L.F., Northing, P., Luo, W., Cannon, R.J.C, and Walters, K.F.A., 2008, Further compatibility tests of the entomopathogenic fungus <i>Lecanicillium muscarium</i> with conventional insecticide products for control of sweetpotato whitefly, <i>Bemisia tabaci</i> on poinsettia plants., DACO: M10.5
2868356	Cuthbertson, A.G.S., Walters, K.F.A, and Deppe, C., 2005, Compatibility of the entomopathogenic fungus <i>Lecanicillium muscarium</i> and insecticides for eradication of sweetpotato whitefly, <i>Bemisia tabaci</i> ., DACO: M10.5
2868362	2011, Compatibility among entomopathogenic hyphocreales and two beneficial insects used to control <i>Trialeurodes vaporariorum</i> (Hemiptera: Aleurodidae) in Mediterranean greenhouses., DACO: M10.5

B. Renseignements supplémentaires examinés**Renseignements publiés****Environnement**

Numéro de document de l'ARLA	Référence
3112778	Le Grand, M. and Cliquet, S., 2013, Impact of culture age on conidial germination, desiccation and UV tolerance of entomopathogenic fungi, <i>Biocontrol Science and Technology</i> , 23:7, 847-859, DOI: 10.1080/09583157.2013.802289 , DACO: M9.2.1, M9.2.2, M9.3, M9.4.1, M9.5, M9.8
3112779	Braga, G.U.L., Rangel, D.E.N., Flint, S.D., Miller, C.D., Anderson, A.J. and Roberts, D.W., 2002, Damage and recovery from UV-B exposure in conidia of the entomopathogens <i>Verticillium lecanii</i> and <i>Aphanocladium album</i> , <i>Mycologia</i> , 94:6, 912-920, DOI: 10.1080/15572536.2003.11833149 DACO: M9.2.1, M9.2.2, M9.3, M9.4.1, M9.5, M9.8
3112780	Galvão, J.A.H. and Bettioli, W., 2014, Effects of UV-B radiation on <i>Lecanicillium</i> spp., biological control agents of the coffee leaf rust pathogen, <i>Tropical Plant Pathology</i> 39(5) https://doi.org/10.1590/S1982-56762014000500006 DACO: M9.2.1, M9.2.2, M9.3, M9.4.1, M9.5, M9.8