



Projet de décision d'homologation

PRD2020-04

# Souche FZB42 de *Bacillus amyloliquefaciens* et fongicide microbien AmyProtec 42

*(also available in English)*

**Le 4 juin 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](http://Canada.ca/les-pesticides)  
[hc.pmra.publications-arla.sc@canada.ca](mailto: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](mailto:hc.pmra.info-arla.sc@canada.ca)

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

Numéro de catalogue : H113-9/2020-4F (publication imprimée)  
H113-9/2020-4F-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 FZB42 de <i>Bacillus amyloliquefaciens</i> .....	1
Fondements de la décision d'homologation de Santé Canada .....	1
Qu'est-ce que la souche FZB42 de <i>Bacillus amyloliquefaciens</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 Le principe actif, ses propriétés et ses utilisations .....	7
1.1 Description du principe actif .....	7
1.2 Propriétés physico-chimiques du principe actif et de la préparation commerciale .....	8
1.3 Mode d'emploi .....	9
1.4 Mode d'action.....	9
2.0 Méthodes d'analyse .....	9
2.1 Méthodes d'identification des microorganismes.....	9
2.2 Méthodes 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 .....	10
2.4 Méthodes de détermination et de quantification des résidus (viables ou non viables) du microorganisme actif et des métabolites pertinents.....	10
2.5 Méthodes d'analyse des impuretés pertinentes dans le produit fabriqué .....	10
2.6 Méthodes 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'infectiosité .....	10
3.1.1 Essais.....	10
3.1.2 Autres renseignements .....	12
3.1.3 Rapports d'incidents impliquant la santé humaine ou animale .....	13
3.1.4 Analyse des dangers.....	14
3.2 Évaluation des risques liés à une exposition professionnelle, résidentielle ou occasionnelle .....	14
3.2.1 Évaluation des risques liés à une exposition professionnelle ou après traitement..	14
3.2.2 Évaluation des risques liés à une exposition résidentielle ou occasionnelle .....	15
3.3 Évaluation des risques liés à une exposition par le régime alimentaire .....	15
3.3.1 Aliments.....	16
3.3.2 Eau potable.....	16
3.3.3 Risques liés aux expositions aiguë et chronique par le régime alimentaire chez les sous-populations sensibles .....	16
3.3.4 Exposition globale et risques connexes .....	17
3.3.5 Limites maximales de résidus.....	17

3.4	Évaluation des risques cumulatifs .....	17
4.0	Effets sur l'environnement.....	18
4.1	Devenir et comportement dans l'environnement.....	18
4.2	Effets sur les espèces non ciblées .....	18
4.2.1	Effets sur les espèces terrestres.....	19
4.2.2	Effets sur les espèces aquatiques .....	23
4.3	Rapports d'incident lié à l'environnement .....	24
5.0	Valeur.....	24
6.0	Considérations relatives à la politique sur les produits antiparasitaires .....	25
6.1	Considérations relatives à la Politique de gestion des substances toxiques .....	25
6.2	Formulants et contaminants préoccupants pour la santé ou pour l'environnement .....	25
7.0	Résumé.....	26
7.1	Méthodes d'analyse du microorganisme, tel qu'il est fabriqué.....	26
7.2	Santé et sécurité humaines.....	26
7.3	Risques pour l'environnement.....	27
7.4	Valeur .....	28
8.0	Décision réglementaire proposée .....	28
	Liste des abréviations.....	29
Annexe I	Tableaux et figures.....	30
Tableau 1	Profil de toxicité de la souche technique FXB42 de <i>Bacillus amyloliquefaciens</i> et du fongicide microbien AmyProtec 42 .....	30
Tableau 2	Toxicité et pathogénicité du fongicide microbien AmyProtec 42 pour les espèces non ciblées.....	31
Tableau 3	Liste des utilisations appuyées par le titulaire.....	36
Annexe II	Concentrations estimées dans l'environnement.....	37
	Références.....	38

## Aperçu

### Projet de décision d'homologation concernant la souche FZB42 de *Bacillus amyloliquefaciens*

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 la souche technique FZB42 de *Bacillus amyloliquefaciens* et de la préparation commerciale, le fongicide microbien AmyProtec 42, qui contient comme principe actif de qualité technique la souche FZB42 de *B. amyloliquefaciens*. L'usage du fongicide microbien AmyProtec 42 est proposé pour la répression partielle de la gale commune (*Streptomyces scabies*) de la pomme de terre et de la pourriture basale fusarienne (*Fusarium oxysporum*) de l'ail.

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, tandis que la section de 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 FZB42 de *B. amyloliquefaciens* et du fongicide microbien AmyProtec 42.

### 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 acceptables<sup>1</sup> 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 valeur<sup>2</sup> lorsqu'ils sont utilisés conformément au mode d'emploi figurant sur l'étiquette. Les conditions d'homologation peuvent comprendre 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 applique des méthodes et des politiques 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. Les méthodes et les politiques tiennent également compte de la

---

<sup>1</sup> « Risques acceptables » selon la définition du paragraphe 2(2) de la *Loi sur les produits antiparasitaires*.

<sup>2</sup> « 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; 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. »

nature des effets observés et de l'incertitude des prévisions concernant les répercussions de l'utilisation des pesticides. 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](#) du site Web Canada.ca.

Avant de rendre une décision finale concernant l'homologation de la souche FZB42 de *B. amyloliquefaciens* et du fongicide microbien AmyProtec 42, l'ARLA de Santé Canada examinera tous les commentaires reçus du public en réponse au présent document de consultation<sup>3</sup>. Santé Canada publiera ensuite un document de décision<sup>4</sup> d'homologation dans lequel il présentera sa décision, les raisons qui la justifient, un résumé des commentaires reçus au sujet du projet de décision d'homologation et la réponse de Santé Canada à ces commentaires.

Pour obtenir des précisions sur les renseignements exposés dans cet aperçu, veuillez consulter l'Évaluation scientifique présentée dans les pages suivantes.

## **Qu'est-ce que la souche FZB42 de *Bacillus amyloliquefaciens*?**

La souche FZB42 de *B. amyloliquefaciens* est le principe actif qui entre dans la composition du fongicide microbien AmyProtec 42, lequel est utilisé comme traitement des semences et pulvérisation dans la raie de semis pour réprimer en partie la gale commune de la pomme de terre, et comme traitement par bassinage du sol pour réprimer en partie la pourriture basale fusarienne de l'ail. Il s'agit d'une bactérie gram positif qui peut rompre les membranes cellulaires des pathogènes en cause. En outre, ses métabolites bactériens peuvent déclencher une réaction de résistance systémique induite à l'intérieur des plantes traitées, ce qui protège les cultures contre certaines maladies.

## **Considérations relatives à la santé**

### **Les utilisations homologuées de la souche FZB42 de *Bacillus amyloliquefaciens* peuvent-elles nuire à la santé humaine?**

#### **Il est peu probable que la souche FZB42 de *Bacillus amyloliquefaciens* nuise à la santé lorsqu'elle est utilisée conformément au mode d'emploi figurant sur l'étiquette.**

Une exposition à la souche FZB42 de *B. amyloliquefaciens* peut survenir pendant la manipulation et l'application du fongicide microbien AmyProtec 42, ainsi que par ingestion de produits agricoles traités avec ce produit. Plusieurs facteurs déterminants sont examinés au cours de l'évaluation des risques sanitaires :

- 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;

---

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

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

- la concentration à laquelle les personnes peuvent être exposées pour ce qui est des autres isolats de ce microorganisme déjà présents dans la nature.

Les doses utilisées aux fins de l'évaluation des risques sont établies de façon à protéger les sous-populations humaines qui sont les plus sensibles (par exemple, les femmes qui allaitent et les enfants). Ainsi, le sexe et le genre sont pris en compte dans l'évaluation des risques. Seules les utilisations qui ne posent pas de risques préoccupants pour la santé sont considérées comme acceptables à des fins d'homologation.

Les études effectuées sur des animaux de laboratoire permettent de décrire les effets possibles sur la santé découlant de l'exposition à de fortes doses à un microorganisme et de déterminer les préoccupations liées à la pathogénicité, à l'infectiosité et à la toxicité. Lorsqu'une formulation de toxicité équivalente à celle du fongicide microbien AmyProtec 42 a été testée sur des animaux de laboratoire, elle présentait une faible toxicité après une exposition par voie orale, par voie cutanée ou par inhalation, mais elle n'était pas irritante pour la peau. De plus, rien n'indique que l'agent microbien de lutte antiparasitaire (AMLA), la souche FZB42 de *B. amyloliquefaciens*, est pathogène.

### **Résidus présents 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 FZB42 de *B. amyloliquefaciens* sur les cultures traitées, au moment de la récolte. Bien que *B. amyloliquefaciens* et les espèces qui y sont étroitement apparentées, *B. subtilis* et *B. licheniformis*, abondent dans la nature, seuls quelques cas de maladies d'origine alimentaire ont été signalés chez l'humain et uniquement avec des isolats capables de produire une toxine qui, a priori, n'est pas produite par la souche FZB42 de *B. amyloliquefaciens*. Les pratiques agricoles visant à rincer les cultures traitées après la récolte devraient permettre de réduire la probabilité d'exposition aux résidus de la souche FZB42 de *B. amyloliquefaciens* par le régime alimentaire. Aucun signe d'infectiosité ou de toxicité n'a été constaté chez les animaux de laboratoire exposés à la souche FZB42 de *B. amyloliquefaciens*. Par ailleurs, il est peu probable que des résidus de cette souche contaminent l'approvisionnement en eau potable à cause des usages prévus du fongicide microbien AmyProtec 42 sur des cultures vivrières par bassinage du milieu de culture, pulvérisation dans la raie de semis ou traitement des semences. Les risques par le régime alimentaire sont donc jugés acceptables.

### **Risques en milieu résidentiel et en milieux autres que professionnels**

#### **Les risques estimés liés à l'exposition en milieu non professionnel sont acceptables.**

On propose d'utiliser le fongicide microbien AmyProtec 42 sur des cultures agricoles de plein champ. L'étiquette du produit comporte des mesures visant à prévenir l'exposition des non-utilisateurs, notamment pour réduire la dérive de pulvérisation et restreindre l'accès au site traité pendant quatre heures ou jusqu'à ce que le produit pulvérisé soit sec.

L'exposition au fongicide microbien AmyProtec 42 en milieu résidentiel et en milieux autres que professionnels devrait être faible lorsque ce produit est utilisé conformément au mode d'emploi qui figure sur son étiquette. Par conséquent, les risques pour les résidents et le grand public sont acceptables.

### **Risques professionnels liés à la manipulation du fongicide microbien AmyProtec 42**

**Les risques professionnels sont jugés acceptables lorsque le fongicide microbien AmyProtec 42 est utilisé conformément au mode d'emploi figurant sur son étiquette, qui comprend des mesures de protection.**

Les travailleurs qui manipulent le fongicide microbien AmyProtec 42 peuvent être directement exposés à la souche FZB42 de *B. amyloliquefaciens* si le produit entre en contact avec la peau et les yeux ou encore, s'il est inhalé. Afin de protéger les travailleurs d'une exposition au fongicide microbien AmyProtec 42, 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.

### **Considérations relatives à l'environnement**

**Qu'arrive-t-il lorsque la souche FZB42 de *Bacillus amyloliquefaciens* est introduite dans l'environnement?**

**Les risques pour l'environnement sont jugés acceptables.**

*Bacillus amyloliquefaciens* est un microorganisme commun qui est largement répandu dans l'environnement naturel. Son habitat est principalement le sol, y compris les sols dans les colonnes d'eau et les dépôts de fond dans les milieux aquatiques. Les données dont on dispose sur le devenir de la souche FZB42 de *B. amyloliquefaciens* dans l'environnement laissent supposer que ce microorganisme, qui vit dans le sol, survivra probablement après l'application du fongicide microbien AmyProtec 42 sur des cultures agricoles de plein champ, mais qu'au fil du temps, la population de cette souche devrait revenir à la normale.

Les utilisations proposées du fongicide microbien AmyProtec 42 ne devraient pas accroître de façon durable la population de la souche FZB423 de *B. amyloliquefaciens* dans les milieux terrestres et aquatiques au-delà des concentrations naturelles.

Aucune maladie associée aux populations naturelles de *B. amyloliquefaciens* n'est signalée dans la documentation en ce qui concerne les oiseaux, les mammifères sauvages, les poissons, les arthropodes terrestres et aquatiques, les invertébrés terrestres et aquatiques non-arthropodes, et les végétaux terrestres et aquatiques. De plus, le demandeur a soumis des études sur les effets de

la souche FZB42 de *B. amyloliquefaciens* chez les oiseaux, les abeilles, les arthropodes terrestres, les lombrics, les microorganismes du sol, les cultures horticoles, les poissons, les arthropodes aquatiques et les végétaux aquatiques. Aucun effet néfaste n'a été observé chez les oiseaux, les lombrics, les microorganismes du sol, les cultures horticoles, les poissons ou les arthropodes et les végétaux aquatiques. On a relevé des effets toxiques et des effets sublétaux chez les abeilles et une espèce d'arthropode; cependant, ces effets se sont manifestés à des concentrations supérieures à l'exposition prévue lorsque le fongicide microbien AmyProtec 42 est utilisé conformément au mode d'emploi figurant sur son étiquette.

D'après les résultats d'un examen critique des données soumises par le demandeur et des renseignements tirés de sources publiques, on ne prévoit aucun effet important sur les oiseaux, les abeilles, les arthropodes, les mammifères sauvages, les microorganismes du sol, les poissons ou les végétaux lorsque AmyProtec 42 est appliqué conformément au mode d'emploi figurant sur l'étiquette.

## **Considérations relatives à la valeur**

### **Quelle est la valeur du fongicide microbien AmyProtec 42?**

La souche FZB42 de *B. amyloliquefaciens*, le principe actif qui entre dans la composition du fongicide microbien AmyProtec 42, permet de réprimer partiellement la gale commune de la pomme de terre et la pourriture basale fusarienne de l'ail.

Utilisé comme traitement des semences ou par pulvérisation dans la raie de semis, le fongicide microbien AmyProtec 42 permet de réprimer en partie la gale commune de la pomme de terre. Il est également efficace pour réprimer en partie la pourriture basale fusarienne de l'ail comme traitement par bassinage du sol. L'accès au fongicide microbien AmyProtec 42 au Canada fournira aux utilisateurs un outil efficace contre ces importantes maladies dans les cultures d'ail et de pomme de terre.

## **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 de réduction des risques proposées à l'étiquette du principe actif de qualité technique, la souche FZB42 de *B. amyloliquefaciens*, et du fongicide microbien, AmyProtec 42, en vue de réduire les risques relevés dans le cadre de la présente évaluation.

### **Principales mesures de réduction des risques**

#### **Santé humaine**

Tous les microorganismes, y compris la souche FZB42 de *B. amyloliquefaciens*, contiennent des substances qui sont des sensibilisants potentiels, et les personnes exposées à des quantités vraisemblablement importantes de la souche FZB42 de *B. amyloliquefaciens* peuvent acquérir

une sensibilité à celles-ci. Par conséquent, les travailleurs qui manipulent ou appliquent le fongicide microbien AmyProtec 42 doivent porter des gants imperméables, un vêtement à manches longues, un pantalon, des lunettes de protection, un respirateur à masque filtrant approuvé par le NIOSH ainsi que des chaussures et des chaussettes. Il est en outre interdit à tous les travailleurs non protégés de pénétrer dans les sites traités pendant les quatre heures qui suivent l'application ou jusqu'à ce que le produit pulvérisé soit sec.

## **Environnement**

L'étiquette de la préparation commerciale doit comporter des mises en garde relatives à l'environnement qui visent à interdire l'application par pulvérisation aérienne, à limiter la dérive et à réduire la contamination des habitats aquatiques en raison de l'utilisation du fongicide microbien AmyProtec 42.

## **Prochaines étapes**

Avant de rendre une décision finale concernant l'homologation de la souche FZB42 de *B. amyloliquefaciens* et du fongicide microbien AmyProtec 42, 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 la date de publication du document.

Veillez faire parvenir tout commentaire aux Publications, dont les coordonnées figurent en page couverture. Santé Canada publiera ensuite un document de décision d'homologation dans lequel il présentera sa décision, les raisons qui la justifient, un résumé des commentaires formulés au sujet du projet de décision d'homologation et sa réponse à ces commentaires.

## **Autres renseignements**

Une fois que Santé Canada aura pris sa décision concernant l'homologation de la souche FZB42 de *B. amyloliquefaciens* et du fongicide microbien AmyProtec 42, le ministère 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 FZB42 de *Bacillus amyloliquefaciens* et fongicide microbien AmyProtec 42

### 1.0 Le principe actif, ses propriétés et ses utilisations

#### 1.1 Description du principe actif

<b>Microorganisme actif</b>	Souche FZB42 de <i>Bacillus amyloliquefaciens</i>
<b>Utilité</b>	Fongicide – Pour la répression partielle de la pourriture basale fusarienne ( <i>Fusarium oxysporum</i> ) de l’ail la gale commune ( <i>Streptomyces scabies</i> ) de la pomme de terre
<b>Binomiale</b>	Souche FZB42 de <i>Bacillus amyloliquefaciens</i>
<b>Désignation taxonomique<sup>5</sup></b>	
<b>Règne</b>	Eubactéries
<b>Embranchement</b>	Firmicutes
<b>Classe</b>	Bacilli
<b>Ordre</b>	Bacillales
<b>Famille</b>	Bacillaceae
<b>Genre</b>	<i>Bacillus</i>
<b>Espèce</b>	<i>amyloliquefaciens</i>
<b>Souche</b>	FZB42
<b>Renseignements concernant les brevets éventuels</b>	Aucun
<b>Pureté minimale du principe actif</b>	Principe actif de qualité technique : teneur minimale de $5 \times 10^{10}$ unités formatrices de colonies (UFC)/ml Préparation commerciale : teneur minimale de $2,5 \times 10^{10}$ UFC/ml
<b>Nature des impuretés d’importance toxicologique, environnementale ou autre</b>	Le principe actif de qualité technique ne contient ni impureté ni microcontaminant figurant sur la liste 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.

---

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

## 1.2 Propriétés physico-chimiques du principe actif et de la préparation commerciale

Produit technique : souche technique FZB42 de *Bacillus amyloliquefaciens*

Propriété	Résultat
Couleur	Jaune brun
État physique	Liquide légèrement pâteux
Odeur	Odeur de terre
Caractéristiques de corrosion	Non déclaré
pH	6,7
Masse volumique	1,030 g/ml
Viscosité	Non déclaré

Préparation commerciale : fongicide microbien AmyProtec 42

Propriété	Résultat
Couleur	Jaune brun
État physique	Liquide légèrement pâteux
Odeur	Odeur de terre
Caractéristiques de corrosion	Non corrosif pour les matériaux d'emballage.
pH	6,26 (non dilué) 7,03 (dilué à 1 %)
Masse volumique	1,030 g/ml

Viscosité du fongicide microbien AmyProtec 42 (à 20 °C)			Viscosité du fongicide microbien AmyProtec 42 (à 40 °C)		
tr/min	Viscosité (mPa/s)	Torsion (%)	tr/min	Viscosité (mPa/s)	Torsion (%)
4	19,73	7,4	4	12,89	4,9
5	18,93	8,9	5	12,14	5,7
6	18,16	10,3	6	11,52	6,5
10	16,38	15,5	10	9,98	9,4
12	15,74	17,8	12	9,37	10,6
20	14,32	27,0	20	8,35	15,7
30	13,28	37,6	30	7,67	21,7
50	12,10	57,2	50	7,01	33,0
60	11,76	66,6	60	6,80	38,5
100	10,70	99,8	100	6,33	59,7

### **1.3 Mode d'emploi**

L'application du fongicide microbien AmyProtec 42 comme traitement des semences à raison de 230 ml/100 kg de tubercules ou par pulvérisation dans la raie de semis à raison de 1,0 L/ha permet de réprimer partiellement la gale commune de la pomme de terre. Le fongicide microbien AmyProtec 42 permet aussi de réprimer partiellement la pourriture basale fusarienne de l'ail par bassinage du sol au moment du semis à raison de 0,4 ml/L (volume maximal de 30 000 L/ha).

### **1.4 Mode d'action**

*Bacillus amyloliquefaciens* est classé comme un fongicide du groupe 44 par le Fungicide Resistance Action Committee. Il peut rompre les membranes cellulaires des pathogènes en cause. En outre, les études portant sur le mécanisme de lutte biologique de la souche FZB42 de *B. amyloliquefaciens* confirment que ses métabolites bactériens peuvent déclencher une réaction de résistance systémique induite à l'intérieur des plantes traitées, ce qui signifie que cette bactérie gram positif peut avoir un rôle déterminant dans le cadre de la lutte biologique.

## **2.0 Méthodes d'analyse**

### **2.1 Méthodes d'identification des microorganismes**

Le demandeur a soumis des méthodes acceptables pour la détection, l'isolement et le dénombrement du principe actif, la souche FZB42 de *B. amyloliquefaciens*. 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 FZB42 de *B. amyloliquefaciens* peut être identifiée à l'espèce grâce à une combinaison de méthodes phénotypiques et biochimiques et d'analyses phylogénétiques faisant appel aux séquences présumées des nucléotides des régions extrêmement variables de l'ARNr 16S. L'identification de l'AMLA à la souche peut également être confirmée par des analyses visant à déceler la présence d'un fragment unique d'ADN à 785 paires de bases issu d'une réaction en chaîne de la polymérase.

### **2.2 Méthodes de détermination de la pureté des souches**

La souche a été déposée dans la collection de cultures Deutsche Sammlung von Mikroorganismen und Zellkulturen (DSMZ) et dans le *Bacillus* Genetic Stock Center, sous les numéros d'identification DSM 23117 et 10A6, respectivement. Une banque de cellules maîtresses est également entretenue de façon appropriée par le fabricant, qui a généré une banque de cellules de travail à partir de la banque de cellules maîtresses aux fins de fabrication.

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). Le demandeur a soumis des données représentatives pour trois lots de la préparation commerciale et a décrit adéquatement la méthode de détermination du nombre d'UFC.

### **2.4 Méthodes 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 *Bacillus* et isolats de *B. amyloliquefaciens*.

### **2.5 Méthodes 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 la souche technique FZB42 de *B. amyloliquefaciens* et du fongicide microbien AmyProtec 42 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 du fongicide microbien AmyProtec 42 par des méthodes standards de détection et de comptabilisation des contaminants microbiens préoccupants. Tous les lots du fongicide microbien AmyProtec 42 doivent respecter 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 Méthodes 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 du fongicide microbien AmyProtec 42. À la lumière des résultats, le produit peut être entreposé pendant 12 mois à une température de 25 °C.

## **3.0 Effets sur la santé humaine et animale**

### **3.1 Résumé sur la toxicité et l'infectiosité**

#### **3.1.1 Essais**

L'ARLA a effectué un examen détaillé des études toxicologiques présentées à l'appui de l'homologation de la souche technique FZB42 de *B. amyloliquefaciens* et de la préparation commerciale connexe, le fongicide microbien AmyProtec 42.

L'ensemble de données contient une étude de toxicité ou de pathogénicité aiguë par voie orale, une étude de toxicité ou de pathogénicité aiguë par inhalation, une étude de pathogénicité aiguë par voie intraveineuse, une étude de toxicité aiguë par voie cutanée et une étude d'irritation cutanée. Dans ces études, la substance d'essai est le produit liquide RhizoVital 42 et celui-ci est considéré comme un équivalent toxicologique au fongicide microbien AmyProtec 42.

Dans le cadre de l'étude de toxicité ou de pathogénicité aiguë par voie orale, on a administré une dose unique de 0,1 ml de RhizoVital 42 (équivalente à  $5,7 \times 10^9$  UFC de la souche FZB42 de *B. amyloliquefaciens* par rat) par voie orale (gavage) à de jeunes rats Sprague Dawley albinos adultes soumis à un jeûne (12 mâles et 12 femelles). Les animaux ont fait l'objet d'un examen quotidien pendant une période allant jusqu'à 21 jours, et les sacrifices en cours d'étude ont été effectués aux jours 3 et 7. Aucune mortalité ni aucun effet toxicologique n'a été constaté chez les animaux au cours de l'étude. Vingt-quatre heures après l'administration de la dose, il n'y avait plus de trace de la substance d'essai dans l'urine. L'élimination de l'AMLA a été constatée à partir du jour 7 dans le sang, le cerveau, les poumons, le foie, la rate, les reins, les ganglions lymphatiques mésentériques et le cæcum. Au jour 14, il n'y avait plus de trace de l'AMLA dans les selles.

Dans l'étude de toxicité et d'infectiosité aiguës par inhalation, on a administré par voie intratrachéale le produit liquide RhizoVital 42 dans une solution saline tamponnée au phosphate à une dose unique de  $1,1 \times 10^9$  UFC/rat (soit  $4,1 \times 10^{10}$  UFC de la souche FZB42 de *B. amyloliquefaciens* par gramme) à des groupes de jeunes rats Sprague Dawley albinos adultes (15 mâles et 15 femelles par groupe). Les animaux ont été observés pendant 21 jours et n'ont présenté aucun signe de toxicité. La substance d'essai n'a pas été détectée dans aucun des échantillons de sang, de rein, de ganglion lymphatique mésentérique, de cerveau, de foie, de rate et de cæcum prélevés chez les animaux traités. L'élimination a été constatée dans les poumons 24 heures après l'administration de la dose, mais comme la substance d'essai contient des endospores résilientes, ce n'est pas une constatation normale. Par conséquent, cette étude ne permet pas d'évaluer le potentiel d'infectiosité par inhalation.

Dans l'étude de pathogénicité aiguë par injection intraveineuse, on a administré par injection dans la veine caudale une dose unique ( $3,0 \times 10^9$  UFC de la souche FZB42 de *B. amyloliquefaciens* par rat) du produit liquide RhizoVital 42 dans une solution saline tamponnée au phosphate à des groupes de jeunes rats Sprague Dawley albinos adultes (25 mâles et 25 femelles par groupe). Les animaux ont été observés pendant une période allant jusqu'à 21 jours. Il n'y a eu aucun cas de mortalité, tous les animaux ont paru normaux pendant la durée de l'étude, et lors de l'autopsie suivant l'examen macroscopique mené à la fin de l'étude, on n'a relevé aucune anomalie observable. La substance d'essai n'a pas été détectée dans les tissus du cerveau, et le profil d'élimination de l'AMLA a été établi à partir du jour 21 dans les échantillons d'organes et de tissus. Malgré une diminution significative sur le plan statistique du poids des reins des animaux traités avec l'AMLA vivant par rapport au poids d'organes équivalents non traités, rien n'indique que la souche FZB de *B. amyloliquefaciens* est infectieuse.

Dans l'étude de toxicité aiguë par voie cutanée, un groupe de jeunes rats Sprague-Dawley adultes (cinq mâles et cinq femelles) a été exposé par voie cutanée à 0,1 ml de produit liquide RhizoVital 42 (soit  $4,1 \times 10^{10}$  UFC de la souche FZB42 de *B. amyloliquefaciens* par ml), à raison

de 5 000 mg/kg de poids corporel (équivalent à  $3,0 \times 10^9$  UFC par rat) pendant 24 heures. La dose a été appliquée sur une surface représentant environ 10 % 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 soumis à l'essai.

Dans l'étude sur l'irritation cutanée primaire, trois jeunes lapins mâles néo-zélandais blancs ont été exposés par voie cutanée à 0,5 ml de produit liquide RhizoVital 42 (soit  $4,1 \times 10^{10}$  UFC de la souche FZB42 de *B. amyloliquefaciens* par g) dans une solution tamponnée au phosphate pendant quatre heures. La dose a été appliquée sur une surface représentant environ 10 % de la surface du corps. Les animaux ont ensuite été observés pendant trois jours. D'après la cote d'irritation maximale calculée de 0/8, le produit liquide RhizoVital 42 est très peu irritant pour la peau des lapins.

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

### 3.1.2 Autres renseignements

Une recherche dans la littérature scientifique publiée concernant *B. amyloliquefaciens* et *B. subtilis*, l'espèce qui y est étroitement apparentée, a permis de constater que la souche FZB42 de *B. amyloliquefaciens* n'était liée à aucun cas d'effets nocifs.

Règle générale, les membres du complexe *Bacillus subtilis* ont la capacité de persister dans des habitats variés, car ils produisent une endospore leur permettant de survivre dans des conditions environnementales sous-optimales (voir la section 4.1 pour des précisions). Ils peuvent notamment contaminer les aliments et le carburant pour avions et coloniser de façon transitoire la microflore intestinale. Certains membres du complexe *Bacillus subtilis* servent à la fermentation de produits alimentaires. Il existe dans la nature de nombreuses variantes physiologiques, indiquant que les membres de ce complexe réussissent à s'établir dans la plupart des milieux.

Des cas isolés de maladies associées à des membres du complexe *Bacillus subtilis* ont été signalés chez des personnes vulnérables comme celles atteintes d'une maladie dégénérative ou dont le système immunitaire est affaibli, ainsi que de très jeunes enfants et des personnes âgées, mais rarement au sein de la population générale. On compte aussi des membres de ce complexe qui produisent des enzymes extracellulaires et des toxines susceptibles de causer des maladies d'origine alimentaire.

On a déjà signalé une flambée de cas du syndrome éosinophilie-myalgie mettant en cause une impureté de nature chimique présente dans un supplément alimentaire à base de tryptophane produit par une souche différente de *B. amyloliquefaciens*. Un cas similaire de supplément alimentaire contaminé cette fois avec *B. subtilis* a également été signalé.

Il y a eu de rares cas d'endocardite liée à *B. subtilis* et de bactériémie chez des patients immunodéficients. Dans certains cas, le microorganisme a été introduit dans des tissus sensibles par cathéter intraveineux ou par ponction lombaire. D'autres cas étaient associés à la consommation de drogues, étant donné que les narcotiques sont souvent contaminés par des

bacilles. On a également supposé que l'utilisation systématique de cultures de *B. subtilis* comme support non spécifique d'une flore gastro-intestinale stable était une source possible. Des cas isolés de méningite, une infection oculaire et une infection des tibias ont également été signalés pour *B. subtilis*.

Le pain filant est également associé à *B. subtilis*, et des maladies d'origine alimentaire ont été signalées à l'occasion. D'autres intoxications alimentaires liées à *B. subtilis* et à *B. licheniformis* sont rares, et les souches en cause produisent une toxine très stable à la chaleur (peut-être semblable à l'entérotoxine de *B. cereus*). La souche FZB42 de *B. amyloliquefaciens* ne produit pas cette toxine, et aucune maladie de ce type n'a été signalée avec ce microorganisme. De plus, lorsque la souche FZB42 de *B. amyloliquefaciens* a été administrée par voie orale à des rats, aucun signe de toxicité ou de maladie n'a été observé. En de rares occasions, *B. subtilis* a été considéré comme la cause de maladies d'origine alimentaire pour lesquelles aucune production de toxines n'est détectée.

Certaines souches de *B. licheniformis* peuvent provoquer des avortements chez les espèces bovines, porcines et ovines ainsi que des mastites chez les espèces bovines, mais dans l'ensemble, les risques de maladies attribuables à *B. licheniformis* chez les animaux d'élevage sont faibles.

Une pneumopathie d'hypersensibilité a été signalée à la suite de l'exposition à des cellules végétatives et à des spores de *B. subtilis* et de *B. licheniformis*, libérées par de la poussière de bois en milieu domestique et industriel. Une bactérie appartenant au complexe *Bacillus subtilis* a été retrouvée en fortes concentrations (de  $10^3$  à  $10^6$  UFC/m<sup>3</sup>) à l'intérieur d'habitations endommagées par l'humidité dans lesquelles les occupants ressentaient les effets du syndrome des bâtiments malsains. Il y a également eu le cas des souches 19 b et IAM 1521 de *B. amyloliquefaciens* : ces souches, qui ont été isolées à partir d'habitations endommagées par l'humidité, sont connues pour produire de l'amylosine et causer des effets immunotoxiques et cytotoxiques aux cellules humaines, ce qui peut expliquer les symptômes inflammatoires déclarés par les occupants de ces habitations malsaines sous l'action de l'humidité.

Aucun effet nocif sur la santé n'a été signalé chez les travailleurs dans les sites où la souche FZB42 de *B. amyloliquefaciens* est fermentée ou formulée.

### **3.1.3 Rapports d'incidents impliquant la santé humaine ou animale**

La souche FZB42 de *B. amyloliquefaciens* est un nouveau principe actif en cours d'homologation au Canada. En date du 1<sup>er</sup> octobre 2019, aucun rapport d'incident n'avait été soumis à l'ARLA.

On a signalé un seul incident chez l'humain mettant en cause une souche apparentée de *B. subtilis*, soit la souche QST 713. Dans cet incident, une personne avait déclaré des symptômes mineurs d'éruption cutanée et de toux à la suite de l'application d'un produit contenant la souche QST 713 de *B. subtilis*. Afin de réduire l'exposition des personnes qui mélangent, chargent et appliquent le pesticide, l'étiquette de la préparation commerciale proposée, le fongicide microbien AmyProtec 42, doit comporter les mots indicateurs de danger et les mises en garde

appropriés ainsi qu'une description de l'équipement de protection individuelle requis. Aucune mesure d'atténuation des risques additionnelle n'est proposée à la lumière de l'examen des rapports d'incident.

### **3.1.4 Analyse des dangers**

L'ensemble de données présenté à l'appui de l'homologation de la souche technique FZB42 de *B. amyloliquefaciens* et du fongicide microbien AmyProtec 42 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 la souche FZB42 de *B. amyloliquefaciens*, et la préparation commerciale, le fongicide microbien AmyProtec 42, présentaient une faible toxicité par voie orale, par voie cutanée et par inhalation et il n'était pas pathogène ni infectieux par les voies orale et intraveineuse. La préparation commerciale a causé une irritation minime de la peau. Étant donné l'absence d'essai d'irritation oculaire, les étiquettes du principe actif de qualité technique et de la préparation commerciale doivent inclure l'énoncé standard sur l'équipement de protection individuelle (EPI) concernant les yeux et l'énoncé de danger suivant : « ATTENTION : IRRITANT POUR LES YEUX ». L'AMLA est considéré comme 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 les vapeurs. » ainsi que « Peut irriter les yeux. Éviter tout contact avec les yeux. » doivent également figurer dans l'aire d'affichage secondaire de l'étiquette du principe actif de qualité technique et 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, par voie cutanée et par inhalation. En outre, il n'y avait aucun signe d'infectiosité 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 FZB42 de *B. amyloliquefaciens* 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 une exposition professionnelle, résidentielle ou occasionnelle**

### **3.2.1 Évaluation des risques liés à une exposition professionnelle ou 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. *Bacillus amyloliquefaciens* n'a pas été fréquemment associé à des lésions cutanées, et rien n'indique qu'il pourrait pénétrer par la peau intacte des personnes en bonne santé. De plus, les essais sur la toxicité du produit liquide RhizoVital 42 n'ont révélé aucun signe de toxicité, d'infectiosité ou de pathogénicité par les voies orale, pulmonaire et intraveineuse ni aucun signe d'irritation cutanée. À défaut d'essais, l'ARLA considère tous les microorganismes comme des irritants oculaires; par conséquent, la préparation commerciale est susceptible d'irriter les yeux.

Bien que la préparation commerciale présente une faible toxicité par voie orale, par voie cutanée et par inhalation, l'ARLA présume que tous les microorganismes contiennent des substances qui peuvent induire des réactions d'hypersensibilité, quels que soient les résultats des études de sensibilisation. C'est pourquoi elle exige l'adoption de mesures d'atténuation des risques (comme le port d'un équipement de protection individuelle composé de gants imperméables, d'un vêtement à manches longues, d'un pantalon, de lunettes de protection, d'un respirateur à masque filtrant approuvé par le NIOSH, de chaussures et de chaussettes) dans le but de réduire au maximum l'exposition possible des personnes qui manipulent, mélangent, chargent et appliquent le produit, et les protéger. En outre, tous les travailleurs et les utilisateurs non protégés doivent attendre quatre heures avant de pénétrer dans les sites traités où le fongicide microbien AmyProtec 42 a été appliqué ou encore, que le produit pulvérisé soit sec.

Les avertissements sur l'étiquette ainsi que les restrictions et les mesures d'atténuation des risques propres au produit sont adéquates pour protéger les personnes qui utilisent le fongicide microbien AmyProtec 42. 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 Évaluation des risques liés à une exposition résidentielle ou occasionnelle**

L'utilisation du fongicide microbien AmyProtec 42 à l'extérieur peut entraîner une exposition accidentelle des non-utilisateurs due à la dérive. L'exposition des non-utilisateurs sera atténuée par l'ajout d'un énoncé relatif à la dérive de pulvérisation sur les étiquettes, indiquant de ne pas appliquer le produit dans des zones d'habitation humaine sans avoir pris en considération la vitesse et la direction du vent, les inversions de température, le matériel d'application et les réglages du pulvérisateur. Par ailleurs, la préparation commerciale ne présente qu'une faible toxicité et dans les études menées sur des animaux de laboratoire, rien n'indique que l'AMLA, soit la souche FZB42 de *B. amyloliquefaciens*, provoque des maladies. Par conséquent, les risques pour la santé des non-utilisateurs et des personnes vivant en milieu résidentiel sont jugés acceptables.

### **3.3 Évaluation des risques liés à une exposition par le régime alimentaire**

### 3.3.1 Aliments

Même si le profil d'emploi proposé peut donner lieu à des résidus possibles dans ou sur les denrées agricoles, les risques associés à la consommation d'aliments traités avec le fongicide microbien AmyProtec 42 sont acceptables parce que la souche FZB42 de *B. amyloliquefaciens* n'a présenté aucune toxicité, infectiosité ou pathogénicité dans les études de niveau I. De plus, on n'a trouvé aucun métabolite d'intérêt toxicologique qui soit produit par cet AMLA. Il n'y a donc aucun risque pour la santé de la population générale, y compris les nourrissons et les enfants ni pour la santé des animaux.

### 3.3.2 Eau potable

L'exposition par le régime alimentaire associée à l'eau potable devrait être négligeable, puisque l'étiquette contient les mesures d'atténuation des risques nécessaires pour réduire au minimum la contamination de l'eau potable découlant des utilisations proposées de la souche FZB42 de *B. amyloliquefaciens*. Les usines d'épuration des eaux devraient aussi réduire le transfert des résidus à l'eau potable, et aucun effet nocif n'a été observé dans les études de niveau I. Par conséquent, les risques liés aux résidus de la souche FZB42 de *B. amyloliquefaciens* présents dans l'eau potable sont jugés acceptables.

### 3.3.3 Risques liés aux expositions aiguë et chronique par le régime alimentaire chez 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'infectiosité ou de la pathogénicité) n'est relevé dans les essais sur la toxicité et l'infectiosité aiguës. D'après tous les renseignements et les données sur les risques dont elle dispose, l'ARLA conclut que la souche FZB42 de *B. amyloliquefaciens* 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 FZB42 de *B. amyloliquefaciens* pour la santé humaine.

### 3.3.4 Exposition globale et risques connexes

D'après les résultats des essais de toxicité et d'infectiosité 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 FZB42 de *B. amyloliquefaciens* 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 de la population générale par voie cutanée et par inhalation sera faible, puisque l'utilisation de ce produit n'est pas autorisée sur du gazon, en milieu résidentiel ou dans les aires de loisirs. D'ailleurs, des mesures d'atténuation seront indiquées sur l'étiquette pour réduire la dérive de pulvérisation et certains effets nocifs attribuables à l'exposition à d'autres souches de *B. amyloliquefaciens* présentes dans l'environnement, comme indiqué dans la littérature publique. Même si l'utilisation du fongicide microbien AmyProtec 42 contribue à accroître l'exposition à la souche FZB42 de *B. amyloliquefaciens*, 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.

Il est possible de trouver des résidus de la souche FZB42 de *B. amyloliquefaciens* sur les cultures vivrières traitées, au moment de la récolte. Les risques alimentaires pour les humains découlant de l'utilisation proposée du fongicide microbien AmyProtec 42 sont acceptables, puisque la souche FZB42 de *B. amyloliquefaciens* présente un faible profil de toxicité et qu'aucun métabolite d'intérêt toxicologique n'est produit par cet AMLA. Bien qu'en 2015 les ministres de la Santé et de l'Environnement ont indiqué que certaines souches de *B. subtilis* et de *B. licheniformis* avaient été mises en cause dans des intoxications d'origine alimentaire dans le cadre d'une évaluation préalable finale menée en vertu de la *Loi canadienne sur la protection de l'environnement*, ces souches ont démontré qu'elles peuvent produire une toxine d'une grande stabilité thermique que la souche FZB42 de *B. amyloliquefaciens* ne produirait pas. 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 FZB42 de *B. amyloliquefaciens*.

## 3.4 Évaluation des risques cumulatifs

La *Loi sur les produits antiparasitaires* exige que l'ARLA tienne compte de l'exposition cumulative aux pesticides présentant un mécanisme commun de toxicité. Dans le cadre de l'évaluation d'un mécanisme de toxicité commun, l'ARLA tient compte de la taxonomie des AMLA et de la production de métabolites potentiellement toxiques. En ce qui concerne la présente évaluation, l'ARLA a déterminé que la souche FZB42 de *B. amyloliquefaciens* partage un mécanisme de toxicité commun avec d'autres souches de *B. amyloliquefaciens* et de *B. subtilis* utilisées comme AMLA; la souche F727 de *B. amyloliquefaciens*, la souche MBI 600 de *B. amyloliquefaciens*, la souche D747 de *B. amyloliquefaciens*, la souche QST 713 de *B. subtilis*, la souche GB03 de *B. subtilis*, la souche FMCH 001 de *B. subtilis*, la souche FMCH 002 de *B. licheniformis* et la souche FZB24 de *B. subtilis* var. *amyloliquefaciens*. Les risques pour la santé liés à une exposition cumulative à la souche FZB42 de *B. amyloliquefaciens* et aux autres AMLA susmentionnés ne sont pas préoccupants, vu leurs faibles toxicité et pathogénicité lorsqu'ils sont utilisés conformément au mode d'emploi figurant sur l'étiquette.

## **4.0 Effets sur l'environnement**

### **4.1 Devenir et comportement dans l'environnement**

Aucune étude n'a été exigée ni présentée sur le devenir et le comportement dans l'environnement de la souche FZB42 de *B. amyloliquefaciens*. Cependant, les données sur le devenir dans l'environnement (niveaux II et III) ne sont normalement pas requises au niveau I, et ne le sont que si des effets toxicologiques importants sur des organismes non ciblés sont constatés dans les essais de niveau I.

La souche FZB42 de *B. amyloliquefaciens* est une bactérie ubiquiste du sol qui colonise les racines, les feuilles et autres surfaces des plantes. *Bacillus amyloliquefaciens* est étroitement apparenté à *B. subtilis*. Ce n'est que très récemment que l'on a établi une distinction entre ces deux espèces. Dans des conditions environnementales défavorables, les espèces *Bacillus* produisent des endospores qui leur permettent de résister à des conditions extrêmes de chaleur et de sécheresse, et cette qualité est un facteur important qui explique le caractère ubiquiste de ces microorganismes dans l'environnement. La population de la souche FZB42 de *B. amyloliquefaciens* devrait peu à peu revenir à des concentrations naturelles viables après son utilisation.

Le fongicide microbien AmyProtec 42 n'est pas destiné à être appliqué directement dans un plan d'eau. Par conséquent, l'exposition des habitats aquatiques devrait être faible. Bien que *B. amyloliquefaciens* ne soit pas considéré comme une espèce aquatique et ne soit pas censé croître dans ce milieu, les endospores de ce microorganisme sont susceptibles de persister dans les sédiments, mais au bout d'un certain temps, les populations devraient revenir à la normale.

### **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<sub>50</sub>) ou la dose létale à 50 % (DL<sub>50</sub>). 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. Les études de niveau I sont conçues pour représenter les scénarios de la pire éventualité, lorsque les conditions d'exposition dépassent largement les concentrations prévues 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 espèces terrestres**

Le demandeur a présenté dix études aux fins de l'évaluation des dangers que pose la préparation commerciale pour les oiseaux, les arthropodes terrestres, les invertébrés non-arthropodes et la microflore du sol. À moins d'indications contraires, les essais ont été effectués avec l'un ou l'autre des produits liquides RhizoVital 42 ou FZB 42, qui sont considérés comme des formulations équivalentes sur le plan toxicologique à la préparation commerciale, le fongicide

microbien AmyProtec 42. Le demandeur a également fourni des justifications scientifiques visant l'exemption des essais de pathogénicité chez les oiseaux et des essais chez les végétaux terrestres non ciblés. 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.

Pour évaluer la toxicité aiguë du produit liquide RhizoVital 42 par voie orale chez des cailles du Japon (*Coturnix coturnix japonica*) âgées de six semaines, le produit a été administré à une dose de 2 000 mg/kg de poids corporel (équivalente à  $8,2 \times 10^{10}$  UFC de la souche FZB42 de *B. amyloliquefaciens* par oiseau) à un groupe de dix oiseaux (cinq mâles et cinq femelles) pendant 14 jours. L'étude ne fait état d'aucun signe de toxicité ou de pathogénicité.

En complément de l'étude ci-dessus menée chez une espèce d'oiseau, le demandeur a fourni une justification visant l'exemption des essais supplémentaires chez les oiseaux, en invoquant 1) l'étude de 14 jours sur la toxicité aiguë par voie orale chez les oiseaux dont les résultats révèlent l'absence d'effet nocif, 2) l'incorporation de *B. amyloliquefaciens* comme additif nutritionnel dans certains aliments pour oiseaux de compagnie, 3) les résultats d'un recensement de la littérature montrant que *B. amyloliquefaciens* n'est ni toxique ni pathogène pour les oiseaux et 4) la faible toxicité de cette souche pour les autres vertébrés comme en font foi les études de toxicité pour les mammifères. Aucun autre essai n'a été jugé nécessaire.

La toxicité par contact et les effets sur la reproduction du produit liquide RhizoVital 42 chez l'acarien prédateur *Hypoaspis aculiefer* ont été évalués pendant une période de plus de 14 jours. On a exposé huit réplicats composés chacun de dix acariens femelles à une dose de 1 000 mg/kg de sol en poids sec (équivalente à  $4,1 \times 10^{10}$  UFC de la souche FZB42 de *B. amyloliquefaciens* par kg de sol en poids sec). On n'a observé aucun effet lié au traitement sur la mortalité, mais le rendement de la reproduction chez les animaux du groupe exposé était statistiquement inférieur de 20,2 % par rapport au groupe témoin négatif. La concentration sans effet observé (CSEO) pour les effets sur la reproduction n'a pas été établie puisque l'étude était un essai limite; cependant, la concentration de la substance d'essai à laquelle on a observé une baisse de rendement reproducteur était supérieure de trois ordres de grandeur à la concentration estimée dans l'environnement (voir l'annexe II). Aucun autre essai n'a été jugé nécessaire.

Dans une étude de 28 jours sur la toxicité par contact et les effets sur la reproduction, des collemboles (*Folsomia candida*) ont été exposés au produit liquide RhizoVital 42 à une dose de 1 000 mg/kg de sol en poids sec (équivalente à  $4,1 \times 10^{10}$  UFC/kg de sol en poids sec) par incorporation au sol. On n'a observé aucun effet sur le plan de la mortalité ou de la reproduction, ni signe de toxicité ou de pathogénicité en corrélation avec le traitement.

On a évalué la toxicité et la pathogénicité du produit liquide FZB 42 administré à des larves de chrysope verte (*Chrysoperla rufilabris*) par le régime alimentaire pendant 13 jours à des concentrations nominales de  $7,1 \times 10^5$ ,  $7,1 \times 10^6$ ,  $7,1 \times 10^7$ ,  $7,1 \times 10^8$  et  $7,1 \times 10^9$  UFC/g d'aliments. L'étude a pris fin au jour 13 lorsque le pourcentage de larves en pupaison dans le groupe témoin négatif était supérieur à 50 %. À la fin de l'étude, tous les groupes d'animaux exposés présentaient un taux de mortalité supérieur (de 6,6 à 13 %) à celui du groupe témoin négatif (3,3 %), à l'exception du groupe d'animaux exposés à la dose de  $7,1 \times 10^7$  UFC/g

d'aliments (aucune mortalité). Un retard de pupaison a également été constaté dans le groupe d'animaux exposés à la dose de  $7,1 \times 10^9$  UFC/g d'aliments. Dans cette étude, la CSEO ( $7,1 \times 10^8$  UFC/g d'aliments) pour la pupaison était supérieure de quatre ordres de grandeur à la concentration estimée dans l'environnement, plus précisément dans le sol.

Le demandeur a présenté quatre études afin d'évaluer le danger du fongicide microbien AmyProtec 42 pour l'abeille domestique (*A. mellifera*). Dans une de ces études, on a exposé de jeunes ouvrières adultes au fongicide microbien AmyProtec 42 administré dans une solution de saccharose (50 % poids/volume) à une dose de 540 µg/abeille (équivalente à  $2,21 \times 10^6$  UFC/abeille) pendant 48 heures. Une fois la substance d'essai entièrement consommée, on a administré à volonté aux abeilles une solution de saccharose non traitée pour le reste de l'essai. Aucun effet lié au traitement n'a été observé. Cette étude s'est avérée peu utile dans le cadre de l'évaluation des risques, puisque sa durée était insuffisante pour évaluer adéquatement l'infectiosité.

Dans la deuxième étude, on a exposé de jeunes ouvrières adultes d'abeille domestique (*A. mellifera*) au produit liquide RhizoVital 42 à une dose de 500 µg/abeille (équivalente à  $2,05 \times 10^6$  UFC/abeille) par application topique sur la face dorsale du thorax de 2 µL de la substance d'essai en suspension dans de l'eau minérale pendant 48 heures. Aucun effet lié au traitement n'a été observé. Cette étude s'est avérée peu utile dans le cadre de l'évaluation des risques, puisque sa durée était insuffisante pour évaluer adéquatement l'infectiosité.

Dans la troisième étude, des abeilles domestiques (*A. mellifera*) ont reçu 20 µL de la souche FZB42 de *B. amyloliquefaciens* à une dose de  $1,0 \times 10^7$  CFU/ml (équivalente à la préparation commerciale; dose estimée à  $2 \times 10^5$  UFC/abeille) administrée dans une solution de saccharose à 50 %. Le taux de consommation alimentaire était supérieur à 99 % dans tous les groupes d'essai. On n'a constaté aucun effet lié au traitement sur la mortalité au jour 6, lorsque le nombre de morts observé chez les abeilles du groupe témoin négatif a dépassé 20 %.

Dans la quatrième étude, de jeunes ouvrières adultes d'abeille domestique (*A. mellifera*) ont été nourries avec le produit liquide FZB 42 administré dans une solution de saccharose à 50 % poids/volume et d'eau distillée à des doses de  $1,0 \times 10^6$ ,  $1,0 \times 10^7$ ,  $1,0 \times 10^8$ ,  $1,0 \times 10^9$  et  $1,0 \times 10^{10}$  UFC/ml. On a remarqué dès le début de l'essai que le taux de mortalité dans le groupe d'abeilles exposées à la dose de  $1,0 \times 10^{10}$  UFC/ml grimpait en flèche, pour atteindre 100 % au jour 3. Le taux de mortalité dans les autres groupes d'essai montrait une relation dose-réponse, et celui du groupe témoin négatif dépassait 20 % au jour 6. La pathogénicité de la souche FZB42 de *B. amyloliquefaciens* n'a pu être déterminée à partir de cette étude parce que la viabilité de l'AMLA, contenu dans la substance d'essai et les solutions d'alimentation, n'a pas été vérifiée et que la consommation alimentaire n'a pas été mesurée. Tout porte à croire cependant que *B. amyloliquefaciens* n'est pas un agent pathogène qui attaque spécifiquement les insectes. En outre, la CSEO ( $1,0 \times 10^8$  UFC/ml) était supérieure de quatre à cinq ordres de grandeur à la concentration estimée dans l'environnement pour le sol (voir l'annexe II). Comme les méthodes d'application proposées visent le traitement direct du sol (par pulvérisation dans la raie de semis, mouillage du sol ou traitement des semences de pomme de terre), on ne prévoit qu'une faible exposition des abeilles par le biais de l'alimentation.

De plus, les études portant sur l'abeille domestique révèlent qu'il est peu probable que les effets observés soient liés aux métabolites secondaires produits par l'AMLA. Par conséquent, les risques pour l'abeille domestique sont jugés acceptables.

Dans une étude de toxicité aiguë de 14 jours, on a exposé des lombrics (*Eisenia fetida*) au produit liquide RhizoVital 42 à une dose de 1 000 mg/kg de sol en poids sec (équivalente à  $4,1 \times 10^{10}$  UFC/kg de sol en poids sec). Aucun effet lié au traitement n'a été observé.

Des essais sur le renouvellement de l'azote et du carbone dans le sol et sur les indicateurs métaboliques de l'activité de la communauté microbienne dans le sol ont permis d'étudier les effets du produit liquide RhizoVital 42 sur les microorganismes du sol. Dans cet essai, on a évalué le renouvellement de l'azote et du carbone pendant 28 jours après l'incorporation du produit liquide RhizoVital 42 au sol d'un champ à des concentrations de 5,5 et 27,4 mg/kg de sol en poids sec. Le renouvellement de l'azote a été évalué en mesurant la production de nitrate et le renouvellement du carbone, en mesurant la production de dioxyde de carbone. Il n'y avait aucune différence statistiquement significative entre le témoin du renouvellement de l'azote et le témoin du renouvellement du carbone aux deux concentrations d'essai. Le demandeur a également fourni des publications scientifiques qui démontrent que l'AMLA, même en altérant temporairement la communauté bactérienne de la rhizosphère après son utilisation, ne provoque aucun effet durable sur les communautés microbiennes du sol.

Le demandeur n'a pas présenté d'études abordant les dangers de cet AMLA pour les végétaux terrestres, mais il a apporté une justification qui repose sur l'historique d'utilisation de l'AMLA et la documentation citée. Il y a inclus les essais d'efficacité menés à l'appui de l'homologation du fongicide microbien AmyProtec 42, l'historique d'utilisation de cet AMLA en Allemagne depuis 2005 sans signalement d'effets nocifs, une étude démontrant que l'AMLA ne colonise les racines qu'en surface sans se développer à l'intérieur des végétaux ainsi que deux études dans lesquelles l'application de souches de *B. amyloliquefaciens* a entraîné une augmentation de la phytomasse et du rendement de culture. Par conséquent, les utilisations proposées du fongicide microbien AmyProtec 42 ne devraient avoir aucun effet nocif sur les végétaux terrestres non ciblés étant donné non seulement l'absence de signe de phytotoxicité ou dommage aux cultures dans les essais d'efficacité et la constatation générale selon laquelle l'application de *B. amyloliquefaciens* sur les végétaux permet d'accroître le rendement de culture sans entraîner d'effets nocifs, mais aussi le fait que l'AMLA ne figure pas sur les listes officielles de phytopathogènes et d'organismes nuisibles et qu'il est peu probable que le profil d'emploi proposé donne lieu à une exposition des végétaux non ciblés dans l'environnement.

*Bacillus amyloliquefaciens* n'est pas considéré comme étant pathogène pour les mammifères, et comme l'indiquent les données résumées à la section 3.1.1, la souche FZB42 de *B. amyloliquefaciens* n'a entraîné aucun signe d'infectiosité ou de pathogénicité chez les animaux de laboratoire soumis aux essais par voie orale, voie cutanée, injection intraveineuse et instillation pulmonaire.

L'ensemble des données et des renseignements disponibles au sujet des effets de la souche FZB42 de *B. amyloliquefaciens* sur les espèces terrestres non ciblées ainsi que les mises en garde requises sur l'étiquette du fongicide microbien AmyProtec 42 donnent lieu de croire

que les risques liés à l'utilisation proposée d'AmyProtec 42 sont acceptables pour les oiseaux, les mammifères sauvages, les arthropodes (y compris l'abeille domestique), les invertébrés non-arthropodes et les végétaux.

Les résultats des essais sont résumés au tableau 2 de l'annexe I.

#### 4.2.2 Effets sur les espèces aquatiques

Le demandeur a présenté six études dans le cadre de l'évaluation des dangers que pose la préparation commerciale pour les poissons, les arthropodes aquatiques, les plantes vasculaires et les algues. À moins d'indications contraires, les essais ont été effectués avec l'un ou l'autre des produits liquides RhizoVital 42 ou FZB 42, qui sont considérés comme des formulations équivalentes sur le plan toxicologique à la préparation commerciale, le fongicide microbien AmyProtec 42.

Dans le cadre d'une étude de toxicité aiguë d'une durée de 96 heures, des truites arc-en-ciel (*Oncorhynchus mykiss*) ont été exposées au produit liquide RhizoVital 42 (concentration nominale : 100 mg/L; équivalente à  $4,47 \times 10^9$  UFC/L) sous des conditions statiques. Aucun effet lié au traitement n'a été observé.

Dans une étude de toxicité d'une durée de 30 jours, des truites arc-en-ciel (*O. mykiss*) ont été exposées en milieu aquatique au produit liquide FZB 42 à raison de  $0,826 \times 10^6$  spores/ml sous des conditions de renouvellement semi-statiques, puis par le régime alimentaire à raison de  $0,826 \times 10^6$  spores/g d'aliments. Aucun effet lié au traitement n'a été constaté sur la mortalité, mais on a relevé une diminution significative de la longueur et du poids des truites du groupe exposé à la forme inactivée de la substance d'essai ainsi que de la longueur des truites du groupe exposé à la substance d'essai par rapport aux truites du groupe témoin non traité. Les effets sublétaux observés avec l'une ou l'autre forme de la substance d'essai ne révèlent aucune pathogénicité. La CSEO n'ayant pas été établie pour le poids corporel, le quotient de risque n'a donc pas été calculé de manière définitive. La concentration de la substance d'essai à laquelle des effets sublétaux ont été observés se situe dans un intervalle de part et d'autre de l'estimation de l'exposition, mais il n'est pas prévu d'appliquer le fongicide microbien AmyProtec 42 dans les milieux aquatiques; par conséquent, les poissons ne devraient pas y être exposés. Toutefois, à titre de précaution additionnelle, l'étiquette devra comporter des énoncés indiquant aux utilisateurs de ne pas appliquer le produit dans les milieux aquatiques et d'empêcher son ruissellement vers les systèmes aquatiques, ou leur contamination.

Dans une étude d'immobilisation en doses aiguës sur 48 heures, on a exposé des daphnies (*Daphnia magna*) au produit liquide RhizoVital 42 sous des conditions statiques à une concentration de  $4,31 \times 10^9$  UFC/L. Aucun effet lié au traitement n'a été observé sur le plan de l'immobilisation.

Dans une étude de toxicité de 21 jours, on a exposé des daphnies (*D. magna*) à la souche FZB42 de *B. amyloliquefaciens* sous des conditions de renouvellement semi-statiques à une concentration nominale de  $3,30 \times 10^7$  UFC/ml (concentration moyenne mesurée de  $2,15 \times 10^7$  UFC/ml). On n'a relevé aucun effet en corrélation avec le traitement sur la mortalité ou la reproduction.

On a évalué les effets liés au produit liquide RhizoVital 42 chez la lentille bossue (*Lemna gibba*), une plante vasculaire aquatique flottante, à une concentration nominale de 100 mg/L (concentration mesurée :  $3,28 \times 10^{10}$  UFC/g) sous des conditions statiques. On n'a relevé aucun effet toxique ni aucun effet inhibiteur statistiquement significatif sur le nombre de frondes, le taux de croissance ou le poids sec en corrélation avec le traitement.

Dans une autre étude, les effets du produit liquide RhizoVital 42 chez l'algue verte (*Desmodesmus subspicatus*) ont été évalués pendant trois jours à la dose limite d'essai de 100 mg/L (concentration mesurée :  $3,85 \times 10^{10}$  UFC/g) sous des conditions statiques. L'étude ne révèle aucune différence statistiquement significative en ce qui concerne le taux de croissance des cellules d'algues ou leur rendement entre le groupe exposé et le groupe témoin.

D'après toutes les données et tous les renseignements disponibles sur les effets de la souche FZB42 de *B. amyloliquefaciens* sur les espèces aquatiques non ciblées et compte tenu des mises en garde qui doivent figurer sur l'étiquette du fongicide microbien AmyProtec 42, les risques liés aux utilisations proposées d'AmyProtec 42 sont jugés acceptables pour les poissons, les arthropodes aquatiques, les végétaux aquatiques et les algues.

Les résultats des essais sont résumés au tableau 2 de l'annexe I.

### **4.3 Rapports d'incident lié à l'environnement**

En date du 1<sup>er</sup> octobre 2019, on recensait un seul incident lié à l'environnement mettant en cause *B. subtilis* (souche non précisée). Dans cet incident, des plants d'épinards sont morts après la pulvérisation aérienne d'un produit contenant *B. subtilis*. L'incident s'est vu attribuer un indice de certitude d'improbable. Étant donné que la causalité de l'incident ne répond pas aux critères de hautement probable, probable ou possible, l'incident n'a pas été pris en compte dans le cadre de cet examen. Aucune autre mesure d'atténuation n'est recommandée en ce qui concerne la souche FZB42 de *B. amyloliquefaciens*.

## **5.0 Valeur**

Au Canada, il n'y a aucun produit antiparasitaire de la classe des fongicides qui soit homologué pour la suppression ou la répression de la gale commune de la pomme de terre et de la pourriture basale fusarienne de l'ail. L'homologation du fongicide microbien AmyProtec 42 offrira donc aux utilisateurs un outil leur permettant de lutter contre ces deux maladies fongiques.

D'après les données d'efficacité, l'utilisation du fongicide microbien AmyProtec 42 permet de réprimer partiellement la gale commune de la pomme de terre par traitement des semences ou pulvérisation dans la raie de semis, de même que la pourriture basale fusarienne de l'ail par

mouillage du sol. Il convient de souligner que la souche FZB42 de *B. amyloliquefaciens* a fait l'objet de nombreuses études et son efficacité contre divers pathogènes présents dans le sol a été démontrée dans le cas de plusieurs cultures, dont les pommes de terre et les légumes-bulbes, comme l'indique la documentation scientifique publiée.

Aucun signe de phytotoxicité ni effet nocif n'a été observé dans la batterie d'essais réalisés avec des pommes de terre et de l'ail. En outre, l'application du fongicide microbien AmyProtec 42 ne devrait entraîner aucun dommage aux cultures inscrites sur l'étiquette lorsqu'il est utilisé conformément au mode d'emploi. Les utilisations du fongicide microbien AmyProtec 42 sur les cultures de pomme de terre et d'ail sont donc acceptables (pour des précisions, voir le tableau 3 de l'annexe I).

## **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, selon la *Loi canadienne sur la protection de l'environnement*. La *Loi sur les produits antiparasitaires* prévoit l'application de la Politique de gestion des substances toxiques à toute évaluation des risques liés à un produit.

Dans le cadre de l'examen, la souche technique FZB42 de *B. amyloliquefaciens* et le fongicide microbien AmyProtec 42 ont été évalués conformément à la Directive d'homologation DIR99-03<sup>6</sup> de l'ARLA et en fonction des critères de la voie 1. La souche technique FZB42 de *B. amyloliquefaciens* et le fongicide microbien AmyProtec 42 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 préoccupants pour la santé ou pour l'environnement**

Dans le cadre de l'évaluation, les contaminants présents dans le produit de qualité technique, ainsi que les formulants et les contaminants présents dans la préparation commerciale sont comparés à la *Liste des formulants et des contaminants de produits antiparasitaires qui soulèvent des questions particulières en matière de santé ou d'environnement*<sup>7</sup>. Cette liste est utilisée conformément à l'Avis d'intention NOI2005-01<sup>8</sup> de l'ARLA et est fondée sur les

---

<sup>6</sup> Directive 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*.

<sup>7</sup> TR/2005-114

<sup>8</sup> NOI2005-01, *Liste des formulants et des contaminants de produits antiparasitaires qui soulèvent des questions particulières en matière de santé ou d'environnement en vertu de la nouvelle Loi sur les produits antiparasitaires*.

politiques et la réglementation en vigueur, notamment les directives DIR99-03 et DIR2006-02<sup>9</sup> 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 est parvenue aux conclusions suivantes :

- La souche technique FZB42 de *Bacillus amyloliquefaciens* et la préparation commerciale connexe, le fongicide microbien AmyProtec 42, ne contiennent aucun des produits de formulation ou contaminants figurant dans la *Liste des formulants et des contaminants de produits antiparasitaires qui soulèvent des questions particulières en matière de santé ou d'environnement*.

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 la souche technique FZB42 de *B. amyloliquefaciens* et du fongicide microbien AmyProtec 42 étaient suffisantes pour évaluer les risques de ces produits pour la santé humaine et l'environnement. Le principe actif a été caractérisé et les spécifications de la préparation commerciale ont été confirmées par des analyses portant sur un nombre suffisant de lots. Tous les lots d'AmyProtec 42 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 le fongicide microbien AmyProtec 42 doit être entreposé à 25 °C, pour une période ne dépassant pas 12 mois.

### 7.2 Santé et sécurité humaines

Les études de toxicité, de pathogénicité et d'infectiosité aiguës ainsi que les autres renseignements que le demandeur a fournis à l'appui de l'homologation de la souche technique FZB42 de *Bacillus amyloliquefaciens* et du fongicide microbien AmyProtec 42 ont été jugés acceptables.

D'après l'ensemble des données accessibles, la souche FZB42 de *B. amyloliquefaciens* présente une faible toxicité par voie orale, voie cutanée, injection intraveineuse et instillation pulmonaire. La souche technique FZB42 de *B. amyloliquefaciens* est considérée comme étant très peu irritante pour la peau, et l'AMLA comme 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 » et « Éviter de respirer le brouillard de pulvérisation ».

---

<sup>9</sup> DIR2006-02, *Politique sur les produits de formulation et document d'orientation sur sa mise en œuvre*.

À défaut d'essais, l'ARLA considère tous les microorganismes comme de légers irritants oculaires; par conséquent, la préparation commerciale, le fongicide microbien AmyProitec 42, est également susceptible d'irriter les yeux. Les mots indicateurs « ATTENTION - IRRITANT POUR LES YEUX » et « SENSIBILISANT CUTANÉ POTENTIEL » doivent figurer dans l'aire d'affichage principale de l'étiquette de la préparation commerciale, ainsi que les mises en garde suivantes : « Ce produit peut irriter les yeux. », « Éviter tout contact avec les yeux. », « Peut entraîner une sensibilisation. », « Éviter tout contact avec la peau et les vêtements. » et « Éviter de respirer le brouillard de pulvérisation. »

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 personnes qui manipulent et appliquent le fongicide microbien AmyProtec 42 doivent porter des gants imperméables, un vêtement à manches longues, un pantalon, des lunettes de protection, un respirateur à masque filtrant approuvé par le NIOSH ainsi que des chaussettes et des chaussures dans le but de réduire au maximum l'exposition possible des personnes qui manipulent, mélangent, chargent et appliquent le produit, et les protéger. En outre, tous les travailleurs et les utilisateurs non protégés doivent attendre quatre heures avant de pénétrer dans les sites traités où le fongicide microbien AmyProtec 42 a été appliqué ou tant que le produit pulvérisé n'est pas sec. Toutefois, on juge comme propres à protéger les personnes des risques inhérents à l'exposition professionnelle les mises en garde (par exemple celle prescrivant le port d'un équipement de protection individuelle) qui figurent sur l'étiquette de la préparation commerciale, destinées à réduire les possibilités d'exposition.

Aucun risque pour la santé de la population générale, notamment les nourrissons et les enfants, découlant de l'exposition occasionnelle ou de l'exposition chronique par le régime alimentaire n'est prévu en raison du faible profil de toxicité et de pathogénicité de la souche technique FZB42 de *B. amyloliquefaciens* et du fongicide microbien AmyProtec 42. Il n'est pas nécessaire d'établir une LMR en vertu de la *Loi sur les produits antiparasitaires* pour la souche FZB42 de *B. amyloliquefaciens*.

### **7.3 Risques pour l'environnement**

Les études scientifiques ainsi que les justifications que le demandeur a fournies à l'appui de l'homologation de la souche technique FZB42 de *Bacillus amyloliquefaciens* et du fongicide microbien AmyProtec 42 ont été jugées acceptables. Les risques liés au fongicide microbien AmyProtec 42 sont jugés acceptables pour les espèces non ciblées lorsqu'il est utilisé conformément au mode d'emploi qui figure sur son étiquette.

Dans une étude de cinq jours sur la toxicité de la souche FZB42 de *B. amyloliquefaciens* par le régime alimentaire chez l'abeille domestique, on a constaté un certain degré de toxicité, mais la concentration de la substance d'essai à laquelle on a observé ces effets toxiques était supérieure de plusieurs ordres de grandeur à la concentration estimée dans l'environnement pour le sol résultant du profil d'emploi proposé. Par conséquent, les risques liés aux utilisations proposées du fongicide microbien AmyProtec 42 pour l'abeille domestique sont jugés acceptables.

L'étiquette du fongicide microbien AmyProtec 42 indiquera aux utilisateurs qu'il est interdit d'appliquer le produit directement dans les habitats aquatiques (comme les lacs, les rivières et les étangs) et qu'il faut éviter de contaminer les eaux de surface avec les effluents ayant servi au nettoyage de l'équipement.

#### **7.4 Valeur**

La souche FZB42 de *B. amyloliquefaciens*, le principe actif du fongicide microbien AmyProtec 42, permet de lutter contre la gale commune de la pomme de terre, la pourriture basale fusarienne de l'ail et des maladies transmises par les semences si son utilisation est conforme au mode d'emploi qui figure sur l'étiquette d'AmyProtec 42. L'accès au fongicide microbien AmyProtec 42 au Canada fournira aux utilisateurs un outil efficace contre ces importantes maladies dans les cultures d'ail et de pomme de terre.

### **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 la souche technique FZB42 de *Bacillus amyloliquefaciens* et de la préparation commerciale, le fongicide microbien AmyProtec 42, qui contient comme principe actif de qualité technique la souche FZB42 de *B. amyloliquefaciens*. L'usage d'AmyProtec 42 est proposé pour la répression partielle de la gale commune (*Streptomyces scabies*) de la pomme de terre et de la pourriture basale fusarienne (*Fusarium oxysporum*) de l'ail.

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.

---

## Liste des abréviations

°C	degré Celsius
µL	microlitre
AMLA	agent microbien de lutte antiparasitaire
ARLA	Agence de réglementation de la lutte antiparasitaire
CE <sub>50</sub>	concentration efficace 50
CL <sub>50</sub>	concentration létale 50
CMEO	concentration minimale avec effet observé
CSEO	concentration sans effet observé
DACO	code de données ( <i>Data Code</i> )
DIR	Directive d'homologation
DL <sub>50</sub>	dose létale 50
DSEO	dose sans effet observé
DSMZ	Deutsche Sammlung von Mikroorganismen und Zellkulturen
g	gramme
kg	kilogramme
L	litre
LMR	limite maximale de résidus
ml	millilitre
mg	milligramme
mPa	millipascal
NIOSH	National Institute of Occupational Safety and Health
NOI	Avis d'intention ( <i>Notice of Intent</i> )
OCDE	Organisation de coopération et de développement économiques
PRD	Projet de décision d'homologation ( <i>Proposed Registration Decision</i> )
tr/min	tours par minute
s	seconde
UFC	unités formatrices de colonies

## Annexe I Tableaux et figures

**Tableau 1 Profil de toxicité de la souche technique FXB42 de *Bacillus amyloliquefaciens* et du fongicide microbien AmyProtec 42**

Type d'étude, animal et n° de l'ARLA	Résultats de l'étude
<p>Toxicité ou pathogénicité aiguë par voie orale, 21 jours</p> <p>Rat Sprague Dawley</p> <p>N° de l'ARLA 2942113</p>	<p>Aucune mortalité dans aucun groupe au cours de l'étude.</p> <p>Aucun signe clinique en corrélation avec le traitement, aucune anomalie à l'autopsie et gain de poids corporel chez tous les animaux au cours de l'étude.</p> <p>Établissement d'un profil d'élimination chez les animaux exposés.</p> <p>DL<sub>50</sub> aiguë par voie orale = <math>5,7 \times 10^9</math> UFC de la souche FZB42 de <i>B. amyloliquefaciens</i>/rat</p> <p><b>FAIBLE TOXICITÉ</b>; la souche FZB42 de <i>B. amyloliquefaciens</i> n'est ni infectieuse ni pathogène chez le rat.</p>
<p>Toxicité, infectiosité et pathogénicité aiguës par instillation pulmonaire, 21 jours</p> <p>Rat Sprague Dawley</p> <p>N° de l'ARLA 2711332</p>	<p>Aucune mortalité dans aucun groupe au cours de l'étude.</p> <p>Aucun signe clinique de toxicité, aucune anomalie à l'autopsie et gain de poids corporel chez tous les animaux au cours de l'étude.</p> <p>DL<sub>50</sub> aiguë par instillation pulmonaire &gt; <math>1,1 \times 10^9</math> UFC de la souche FZB42 de <i>B. amyloliquefaciens</i>/rat (mâles et femelles)</p> <p><b>FAIBLE TOXICITÉ</b></p>
<p>Toxicité aiguë par voie cutanée, 14 jours</p> <p>Rat Sprague Dawley</p> <p>N° de l'ARLA 2942115</p>	<p>Aucune mortalité, aucun signe clinique de toxicité ou d'irritation relevé au cours de l'étude.</p> <p>Gain de poids corporel chaque semaine chez tous les animaux au cours de l'étude.</p> <p>Aucune anomalie n'a été observée à l'autopsie.</p> <p>DL<sub>50</sub> aiguë par voie cutanée &gt; 5 000 mg/kg de poids corporel (rats mâles et femelles)</p> <p><b>FAIBLE TOXICITÉ</b></p>
<p>Irritation cutanée, 72 heures</p> <p>Lapin néo-zélandais blanc</p>	<p>Irritant modéré pour la peau (cote d'irritation maximale = 1/8 (1 heure); cote moyenne maximale = 0/8)</p>

Type d'étude, animal et n° de l'ARLA	Résultats de l'étude
N° de l'ARLA 2942127	
Infectiosité aiguë par injection intraveineuse, 21 jours  Rat Sprague Dawley albinos  N° de l'ARLA 2942121	Aucune mortalité dans aucun groupe au cours de l'étude.  Durant les observations cliniques, les animaux ont paru normaux pendant toute la durée de l'étude.  Gain de poids corporel chez tous les animaux chaque semaine au cours de l'étude.  Établissement d'un profil d'élimination chez les animaux exposés.  Administré par injection à la dose de $3,0 \times 10^9$ UFC de la souche FZB42 de <i>B. amyloliquifaciens</i> /rat, l'ARLA n'a causé aucune pathogénicité.

**Tableau 2 Toxicité et pathogénicité du fongicide microbien AmyProtec 42 pour les espèces non ciblées**

Organisme	Exposition	Effets observés et commentaires	N° de l'ARLA
<b>Organismes terrestres</b>			
<b>Vertébrés</b>			
<b>Oiseaux</b>			
Cailles du Japon ( <i>Coturnix coturnix japonica</i> ), âgées de 6 semaines	Par voie orale, 14 jours	Aucun signe de toxicité ou de pathogénicité lié au traitement.  DL <sub>50</sub> par voie orale sur 14 jours : > 2 000 mg de préparation commerciale/kg de poids corporel (> $8,2 \times 10^{10}$ UFC/kg de poids corporel)  <b>FAIBLE TOXICITÉ NON PATHOGÈNE</b>	2942132
<b>Invertébrés</b>			
<b>Arthropodes</b>			
Acarien prédateur ( <i>Hypoaspis aculifer</i> ), femelles adultes	Par contact, 14 jours	Aucun effet sur la mortalité ni aucun signe de pathogénicité lié au traitement.  Réduction significative du rendement de la reproduction chez les acariens du groupe exposé à 1 000 mg/kg de sol en poids sec ( $4,15 \times 10^{10}$ UFC/kg de sol en poids sec)  CL <sub>50</sub> par contact sur 14 jours :	2942137

Organisme	Exposition	Effets observés et commentaires	N° de l'ARLA
		<p>1 000 mg/kg de sol en poids sec (<math>&gt; 4,1 \times 10^{10}</math> UFC/kg de sol en poids sec)</p> <p>CSEO par contact sur 14 jours pour les effets sur la reproduction : <math>&lt; 1\ 000</math> mg/kg de sol en poids sec (<math>&lt; 4,1 \times 10^{10}</math> UFC/kg de sol en poids sec)</p> <p><b>FAIBLE TOXICITÉ</b> <b>EFFETS SUR LA REPRODUCTION</b> <b>NON PATHOGÈNE</b></p>	
Collemboles ( <i>Folsomia candida</i> ), juvéniles	Par contact, 28 jours	<p>Aucun signe de toxicité ou de pathogénicité lié au traitement.</p> <p>CL<sub>50</sub> par contact sur 28 jours : <math>&gt;1\ 000</math> mg/kg de sol en poids sec (<math>&gt; 4,1 \times 10^{10}</math> UFC/kg de sol en poids sec)</p> <p><b>FAIBLE TOXICITÉ</b> <b>NON PATHOGÈNE</b></p>	2942138
Chrysope verte ( <i>Chrysoperla rufilabris</i> ), larves	Par le régime alimentaire, 13 jours	<p>Le taux de mortalité était de 6,6, 13, 0, 10 et 13 % chez les animaux des groupes exposés respectivement aux doses de <math>7,1 \times 10^5</math> UFC/g d'aliments, <math>7,1 \times 10^6</math> UFC/g d'aliments, <math>7,1 \times 10^7</math> UFC/g d'aliments, <math>7,1 \times 10^8</math> UFC/g d'aliments et <math>7,1 \times 10^9</math> UFC/g d'aliments. Le taux de mortalité était de 3,3 et de 13 % chez les animaux du groupe témoin négatif et du groupe témoin atténué, respectivement (la substance d'essai stérilisée à l'autoclave était équivalente à celle du groupe exposé à la dose de <math>7,1 \times 10^9</math> UFC/g d'aliments).</p> <p>Retard de pupaison 2 jours et diminution de la taille des larves observés chez les animaux du groupe témoin atténué et du groupe exposé à la dose de <math>7,1 \times 10^9</math> UFC/g.</p> <p>CL<sub>50</sub> par le régime alimentaire sur 13 jours : <math>&gt; 7,1 \times 10^9</math> UFC/g d'aliments</p> <p>CSEO par le régime alimentaire sur 13 jours pour les effets sur la pupaison :</p>	2942139

Organisme	Exposition	Effets observés et commentaires	N° de l'ARLA
		7,1 × 10 <sup>8</sup> UFC/g d'aliments <b>FAIBLE TOXICITÉ</b>	
Abeilles domestiques ( <i>Apis mellifera</i> ), ouvrières adultes	Par contact, 48 heures	Aucun effet sur la mortalité. CL <sub>50</sub> par contact sur 48 heures : > 2,05 × 10 <sup>6</sup> UFC/abeille <b>FAIBLE TOXICITÉ</b>	2942142
Abeilles domestiques ( <i>Apis mellifera</i> ), ouvrières adultes	Par le régime alimentaire, 6 heures	Aucun effet sur la mortalité. CL <sub>50</sub> par le régime alimentaire sur 48 heures : > 2,21 × 10 <sup>6</sup> UFC/abeille <b>FAIBLE TOXICITÉ</b>	2942142
Abeilles domestiques ( <i>Apis mellifera</i> ), ouvrières adultes	Par le régime alimentaire, 5 jours	Le taux de mortalité au jour 5 était de 13, 16, 20, 44 et 100 % dans les groupes d'animaux exposés respectivement aux doses de 1 × 10 <sup>6</sup> UFC/ml d'aliments, 1 × 10 <sup>7</sup> UFC/ml d'aliments, 1 × 10 <sup>8</sup> CFU/ml d'aliments, 1 × 10 <sup>9</sup> UFC/ml d'aliments et 1 × 10 <sup>10</sup> UFC/ml d'aliments.  Le taux de mortalité au jour 5 était de 15 et de 100 % chez les abeilles du groupe témoin négatif et du groupe témoin atténué, respectivement (la substance d'essai stérilisée à l'autoclave était équivalente à celle du groupe exposé à la dose de 1 × 10 <sup>10</sup> CFU/ml).  CL <sub>50</sub> par le régime alimentaire sur 5 jours : 1,64 × 10 <sup>9</sup> UFC/ml d'aliments  CSEO par le régime alimentaire sur 5 jours : 1,0 × 10 <sup>8</sup> UFC/ml d'aliments <b>FAIBLE TOXICITÉ</b>	2942141
Abeilles domestiques ( <i>Apis mellifera</i> ), ouvrières adultes	Par le régime alimentaire, 4 heures	Aucun effet sur la mortalité ou l'alimentation. Il y avait un plus grand nombre d'abeilles dans un état léthargique dans le groupe exposé et le groupe témoin exposé à la forme inactivée de la substance d'essai que dans le groupe témoin négatif.	2977039

Organisme	Exposition	Effets observés et commentaires	N° de l'ARLA
		<p>CL<sub>50</sub> par le régime alimentaire sur 6 jours &gt; 2 × 10<sup>5</sup> UFC/abeille</p> <p>CME0 pour les effets comportementaux sur 6 jours : ≤ 2 × 10<sup>5</sup> UFC/abeille</p> <p><b>FAIBLE TOXICITÉ</b> <b>EFFETS SUR LE COMPORTEMENT</b></p>	
<b>Espèces non-arthropodes</b>			
Lombries ( <i>Eisenia fetida</i> ), adultes	Par contact, 14 jours	<p>Aucun effet sur la mortalité ou le poids corporel.</p> <p>CL<sub>50</sub> par contact sur 14 jours : &gt; 1 000 mg/kg de sol en poids sec (&gt; 4,1 × 10<sup>10</sup> UFC/kg de sol en poids sec)</p> <p><b>FAIBLE TOXICITÉ</b> <b>NON PATHOGÈNE</b></p>	2942147
<b>Végétaux</b>			
<b>Microorganismes</b>			
Microflore du sol	Par incorporation au sol, 28 jours	Aucun effet sur le renouvellement de l'azote ou du carbone.	2942091
<b>Organismes aquatiques</b>			
<b>Vertébrés</b>			
<b>Poissons</b>			
Truite arc-en-ciel ( <i>Oncorhynchus mykiss</i> )	Par exposition du milieu aquatique, 6 heures	<p>Aucun effet sur la mortalité.</p> <p>CL<sub>50</sub> dans l'eau sur 96 heures : &gt; 100 mg/L (&gt; 4,47 × 10<sup>9</sup> UFC/L)</p> <p><b>FAIBLE TOXICITÉ</b></p>	2942135
Truite arc-en-ciel ( <i>Oncorhynchus mykiss</i> )	Par exposition du milieu aquatique et par le régime alimentaire, 30 jours	<p>Réduction significative de la longueur du corps chez les truites du groupe exposé (0,826 × 10<sup>6</sup> spores/ml du milieu et 0,826 × 10<sup>6</sup> spores/g d'aliments) et chez les truites du groupe témoin exposé à la forme inactivée de la substance d'essai (la substance d'essai stérilisée à l'autoclave était équivalente à celle du groupe exposé). Réduction significative du poids corporel chez les truites du groupe témoin exposé à la forme inactivée de la substance d'essai.</p>	2942134

Organisme	Exposition	Effets observés et commentaires	N° de l'ARLA
		Aucun effet sur la mortalité.  CL <sub>50</sub> par le régime alimentaire sur 30 jours et CL <sub>50</sub> en milieu aquatique : > 0,826 × 10 <sup>6</sup> spores/ml du milieu de culture et 0,826 × 10 <sup>6</sup> spores/g d'aliments  <b>FAIBLE TOXICITÉ</b> <b>EFFETS SUBLÉTAUX</b> <b>NON PATHOGÈNE</b>	
<b>Invertébrés</b>			
<b>Arthropodes</b>			
Daphnies ( <i>Daphnia magna</i> )	Par exposition du milieu aquatique, 48 heures	Aucun effet sur l'immobilisation.  CL <sub>50</sub> en milieu aquatique sur 48 heures : > 4,31 × 10 <sup>9</sup> UFC/L  <b>FAIBLE TOXICITÉ</b>	2942145
Daphnies ( <i>Daphnia magna</i> )	Par exposition du milieu aquatique, 21 jours (conditions de renouvellement semi-statiques)	Aucun effet sur la mortalité ou la reproduction.  CL <sub>50</sub> en milieu aquatique sur 21 jours : > 2,15 × 10 <sup>7</sup> UFC/ml  <b>FAIBLE TOXICITÉ</b> <b>NON PATHOGÈNE</b>	2942144
<b>Végétaux</b>			
Algues vertes ( <i>Desmodesmus subspicatus</i> )	Par exposition du milieu aquatique, 3 jours (conditions statiques)	Aucun effet sur la densité cellulaire, le taux de croissance ou le rendement.  CE <sub>50</sub> en milieu aquatique sur 3 jours : >100 mg/L (4,31 × 10 <sup>9</sup> UFC/L)  <b>FAIBLE TOXICITÉ</b>	2942150
Lenticule bossue ( <i>Lemna gibba</i> )	Par exposition du milieu aquatique, 7 jours (conditions statiques)	Aucun effet sur le nombre de frondes, le taux de croissance ou le poids sec.  CE <sub>50</sub> en milieu aquatique sur 7 jours : > 3,28 × 10 <sup>9</sup> UFC/L  <b>FAIBLE TOXICITÉ</b> <b>NON PATHOGÈNE</b>	2942151

**Tableau 3 Liste des utilisations appuyées par le titulaire**

<b>Allégations appuyées à l'égard des utilisations du fongicide microbien AmyProtec 42</b>
1. Répression partielle de la gale commune ( <i>Streptomyces scabies</i> ) de la pomme de terre, par pulvérisation dans la raie de semis à raison de 1,0 L/ha ou par traitement des semences à raison de 230 ml/100 kg de tubercules de pomme de terre.
2. Répression partielle de la pourriture basale fusarienne ( <i>Fusarium oxysporum</i> ) de l'ail, par mouillage du sol lors du semis à raison de 0,4 ml/L et d'un volume maximal de 30 000 L/ha.

---

## **Annexe II Concentrations estimées dans l'environnement**

### **Milieu aquatique**

La dose maximale d'application proposée pour le fongicide microbien AmyProtec 42 est 0,4 ml de préparation commerciale/L, pour un total de 30 000 L/ha, ou  $3 \times 10^{14}$  spores/ha. En présumant que le produit est appliqué à la surface d'un plan d'eau à la dose maximale d'application, l'exposition estimée est de  $1 \times 10^5$  UFC/ml.

### **Sol**

La dose maximale d'application proposée pour le fongicide microbien AmyProtec 42 est 0,4 ml de préparation commerciale/L, pour un total de 30 000 L/ha, ou  $3 \times 10^{14}$  spores/ha. En présumant que le produit est appliqué à la surface d'un sol à la dose maximale d'application et que le sol a une masse volumique de 1,5 g/ml, l'exposition estimée est de  $6,67 \times 10^4$  UFC/g.

## Références

### A. Liste des études et des renseignements fournis par le titulaire

#### 1.0 Caractérisation et analyse du produit

N° de document de l'ARLA	Référence
2942071	2018, Product Profile and Proposed Use Pattern. DACO : M1.2
2942072	Borris, R., Chen, X-H., Rueckert, C., Blom, J., Becker, A., Baumgarth, B., Fan, B., Pukall, R., Schumann, P., Sporer, C., Junge, H., Vater, J., Publer, A., and Klenk, H.-P. 2011. Relationship of <i>Bacillus amyloliquefaciens</i> clades associated with strains DSM7 and FZB42 - a proposal for <i>Bacillus amyloliquefaciens</i> subsp. nov. and <i>Bacillus amyloliquefaciens</i> subsp. <i>plantarum</i> subsp. nov. based on complete genome sequence comparisons. <i>Int. J. Syst. Evol. Micr.</i> 61: 1786-1801. DACO: M1.2, M2.7.1, M2.7.2, M2.8, M9.8.1
2942073	Chen, X.-H., Koumoutsi, A., Scholz, R., Eisenreich, A., Schneider, K., Heinemeyer, I., Morgenstern, B., Voss, B., Hess, W.R., Reva, O., Junge, H., Voigt, B., Jungblut, P.R., Vater, J., Sussmuth, R., Liesegang, H., Strittmatter, A., Gottschalk, G., and Borriss, R. 2007. Comparative analysis of the complete genome sequence of the plant growth-promoting bacterium <i>Bacillus amyloliquefaciens</i> FZB42. <i>Nature Biotech.</i> 25(9): 1007-1014. DACO: M1.2, M2.7.1, M2.7.2
2942074	Fan, B., Chen, H.X., Budiharjo, A., Bliess, W., Vater, J., and Borriss, J. 2011. Efficient colonization of plant roots by the plant growth promoting bacterium <i>Bacillus amyloliquefaciens</i> FZB42, engineered to express green fluorescent protein. <i>J. Biotech.</i> 151: 303-311. DACO: M1.2, M2.7.2, M9.8.1
2942075	Idris, E.E., Iglesias, D.J., Talon, M. and Borriss, R. 2007. Tryptophan-dependent production of Indole-3-Acetic Acid (IAA) affects levels of plant growth promotion by <i>Bacillus amyloliquefaciens</i> FZB42. <i>MPMI.</i> 20(6): 619-626. DACO: M1.2, M2.7.2, M9.8.1
2942076	Krebs, B., Hoding, B., Kubart, S., Alemayehu Workie, M., Junge, H., Schmiede-Knecht, G., Grosch, R., Bochow, H., and Hevest, M. 1998. Activities and characterization of <i>Bacillus subtilis</i> strains. <i>J. Plant. Dis. Protect.</i> 105(2): 181-197. DACO: M1.2, M2.7.1, M2.7.2, M9.8.1
2942077	Logan, N.A., and De Vos, P. 2009. Genus I. <i>Bacillus</i> Cohn 1872, 174 (AL). pp. 21-92, Bergey's Manual of Systematic Bacteriology, Vol. 3 The <i>Firmicutes</i> . Springer Science and Business Media, New York, NY. DACO: M1.2, M2.7.2, M9.8.1
2942079	2009, Confirmation of Deposit into the German Collection of Microorganisms and Cell Cultures, DSZM, for <i>Bacillus amyloliquefaciens</i> isolate FZB42. DACO: M1.2, M2.7.1, M2.7.2
2942080	Yao, A.V., Bochow, H., Karimov, S., Boturov, U., Sanginboy, S., and Sharipov, A.K. 2006. Effect of FZB24 <i>Bacillus subtilis</i> as a biofertilizer on cotton yields in field tests. <i>Archives of Phytopathology and Plant Protection</i> 39(4): 1-6. DACO: M1.2, M2.7.2, M9.8.1

2942081	2018, International Regulatory Status of the MPCA and EP. DACO: M1.3
2942090	Chowdhury, S.P., Deitel, K., Randler, M., Schmid, M., Junge, H., Borriss, R., Hartmann, A., and Grosch, R. 2013. Effects of <i>Bacillus amyloliquefaciens</i> FZB42 on Lettuce Growth and Health Under Pathogen Pressure and its Impact on the Rhizosphere Bacterial Community. <i>PLoS ONE</i> 8(7): e68818. doi:10.1371/journal.pone.0068818. DACO: M2.7.2
2942092	Schlöter, M., Dilly, O., and Munch, J.C. 2003. Indicators of evaluating soil quality. <i>Agriculture, Ecosystems and Environment</i> 98: 255-262. DACO: M2.7.2

## 2.0 Santé humaine et animale

N° de document de l'ARLA	Référence
2942110	2018, Human Health and Safety Testing Summary. DACO : M4.1
2942111	2018, Infectivity and Toxicity Summary. DACO : M4.2.1
2942112	2018, Acute Oral and Infectivity and Toxicity. DACO: M4.2.2
2942113	2011, Acute Oral Toxicity/Pathogenicity in Rats with FZB42. DACO: M4.2.2
2942114	2018, Acute Pulmonary Infectivity and Toxicity. DACO: M4.2.3
2942115	2011, Acute Pulmonary Toxicity/Pathogenicity in Rats with FZB42. DACO: M4.2.3
2942116	2018, Acute Infectivity Summary. DACO: M4.3.1
2942120	2018, Intravenous Infectivity. DACO: M4.3.2
2942121	2011, Intravenous Toxicity/Pathogenicity in Rats with FZB42. DACO: M4.3.2
2942122	2018, Acute Dermal Toxicity. DACO: M4.4
2942125	2011, Acute Dermal Toxicity Study of RhizoVital 42 Liquid in CD Rats. DACO: M4.4
2942126	2018, Dermal Irritation Study. DACO: M4.5.1
2942127	2011, Acute Dermal Irritation/Corrosion Test (Patch Test) of RhizoVital 42 Liquid in Rabbits. DACO: M4.5.2
2942128	2018, Reporting of Hypersensitivity Incidence. DACO: M4.6

## 3.0 Environnement

N° de document de l'ARLA	Référence
2942132	2011, Avian Acute Oral Toxicity Study of RhizoVital 42 Liquid - Japanese Quail. DACO : M9.2.1
2942130	2018, Avian Oral, DACO : M9.2.1
2942137	2011, RhizoVital 42 Liquid: Acute and Sublethal Toxicity on the Predatory Mite, <i>Hypoaspis aculeifer</i> in Artificial Soil. DACO: M9.5.1
2942138	2011, RhizoVital 42 Liquid: Effects on the Reproduction of the Springtail <i>Folsomia candida</i> Using an Artificial Soil Test. DACO: M9.5.1

2942139	2017, AmyProtec: a dietary pathogenicity and toxicity study with green lacewing larvae ( <i>Chrysoperla rufilabris</i> ). DACO: M9.5.1
2942142	2011, RhizoVital 42 Liquid - Acute Oral and Contact Honey Bee, <i>Apis mellifera</i> L. in the laboratory. DACO: M9.5.1
2942141	2017, AmyProtec: A dietary pathogenicity and toxicity study with the Honey Bee ( <i>Apis mellifera</i> ). DACO: M9.5.1
2977039	2016, <i>Bacillus amyloliquefaciens</i> FZB42 Honeybee ( <i>Apis mellifera</i> ) Acute Oral Toxicity Test. DACO: M9.5.1
2942147	2011, RhizoVital 42 Liquid: Acute toxicity to Earthworms, <i>Eisenia fetida</i> using artificial soil. DACO: M9.6
2942148	2018. Terrestrial Plants. DACO: M9.8.1
2942091	2011, Assessment of the Side Effects of RhizoVital 42 Liquid on the Activity of the Soil Microflora. DACO: M2.7.2
2942090	Chowdhury, S.P., Deitel, K., Randler, M., Schmid, M., Junge, H., Borriss, R., Hartmann, A., and Grosch, R. 2013. Effects of <i>Bacillus amyloliquefaciens</i> FZB42 on Lettuce Growth and Health Under Pathogen Pressure and Its Impact on the Rhizosphere Bacterial Community. <i>PLoS ONE</i> 8(7): e68818. Doi: 10.1371/journal.pone.0068818. DACO: M2.7.2
2942135	2011, RhizoVital Liquid - Acute Toxicity Testing in Rainbow Trout ( <i>Oncorhynchus mykiss</i> ). DACO: M9.4.1
2942134	2011, Toxicity of AmyProtec 42 in a 30-day fish test ( <i>Oncorhynchus mykiss</i> ) as limit test. DACO: M9.4.1
2942145	2011, Assessment of toxic effects of RhizoVital 42 Liquid on <i>Daphnia magna</i> using the 48h acute immobilization test. DACO: M9.5.2
2942150	2011, Testing effects of RhizoVital 42 Liquid to the single cell green algae, <i>Desmodesmus subspicatus</i> . DACO: M9.8.2
2942151	2011, RhizoVital 42 Liquid - Assessment of toxic effects on the duckweed <i>Lemna gibba</i> in a static test. DACO: M9.8.2
2977031	2019, Acute Oral Infectivity and Toxicity Deficiency Response. DACO: M4.2.2
2977034	2019, Acute Pulmonary Infectivity and Toxicity Deficiency Response. DACO: M4.2.3
2977036	2019, Honeybee Deficiency Response. DACO: M9.5.1
2979737	2019, Freshwater Fish Clarification Response. DACO: M9.4.1
2977040	2019, Aquatic Arthropods Deficiency Response. DACO: M9.5.2

#### 4.0 Valeur

N° de document de l'ARLA	Référence
2942154	2018, Value Literature Review. DACO : M10.1
2942156	2018, M10.1 Appendix 1. DACO : M10.1
2942158	2018, Field Studies. DACO : M10.2.2
2942159	2018, M10.2.2 Appendix 1. DACO : M10.2.2
2942160	2016, M10.2.2 Appendix 2. DACO : M10.2.2

2942161	2017, M10.2.2 Appendix 3. DACO: M10.2.2
2942162	2018, M10.2.2 Appendix 4. DACO: M10.2.2
2942163	2018, Phytotoxicity and Phytopathogenicity. DACO: M10.3.1
2942164	2018, Effects on MPCA Performance. DACO: M10.3.2.1
2942165	2018, Effects of the EP. DACO: M10.3.2.2
2942166	2018, Profile of the EP. DACO: M10.4.1
2942168	2018, M10.4.2 Nature and Economics of the Disease Problem in Canada. DACO: M10.4.2
2942169	Goyer, C. and Beaulieu, C. 1997. Host Range of <i>Streptomyces</i> strain causing common scab. <i>Plant Dis.</i> 81: 901-904. DACO: M10.4.2
2942170	Wharton, P., Driscoll, J., Douches, D., Hammerschmidt, R. and Kirk, W. 2007. Common Scab in Potato. Michigan State University Extension Bulletin E-2990. DACO: M10.4.2, M10.4.3
2942171	Sylvar Technologies Inc., 2018, M10.4.3 Current Crop Protection Tools and Practices. DACO: M10.4.3
2942172	2018, Contribution to IPM Strategies and Practices. DACO: M10.4.4
2942173	2018, M10.4.4 Appendix 1. DACO: M10.4.4
2942174	2018, Foreign Reviews of Value. DACO: M12.5.10
2942175	2011, M 12.5.10 Appendix 1. DACO: M12.5.10

## B. Autres renseignements examinés

### i) Renseignements publiés

#### 1.0 Caractérisation et analyse du produit

N° de document de l'ARLA	Référence
3054129	Environment Canada and Health Canada. 2015. Final Screening Assessment: <i>Bacillus amyloliquefaciens</i> 13563-0, <i>Bacillus atrophaeus</i> 18250-7, <i>Bacillus licheniformis</i> American Type Culture Collection (ATCC) 12713, <i>Bacillus subtilis</i> ATCC 6051A (=ATCC 6051a), <i>Bacillus subtilis</i> ATCC 55405, <i>Bacillus subtilis</i> subspecies <i>subtilis</i> ATCC 6051, <i>Bacillus subtilis</i> subspecies <i>inaquosorum</i> ATCC 55406, <i>Bacillus</i> species 16970-5, <i>Bacillus</i> species 2 18118-1, <i>Bacillus</i> species 4 18121-4, <i>Bacillus</i> species 7 18129-3. DACO: M2.7.2
3054133	Rasmus-Sahari, S., Teplova, V.V., Andersson, M.A., Mikkola, R., Kankkunen, P., Matikainen, S., Gahmberg, C.G., Andersson, L.C., and Salkinoja-Salonen, M. 2015. The Peptide Toxin Amylosin of <i>Bacillus amyloliquefaciens</i> from Moisture-Damaged Buildings Is Immunotoxic, Induces Potassium Efflux from Mammalian Cells, and Has Antimicrobial Activity. <i>Applied Environ. Microbiol.</i> 81: 2939-2949. DACO: M2.7.2.