



Note réglementaire

REG2000-04

Biofongicide Mycostop *Streptomyces griseoviridis*

La souche K61 du microorganisme *Streptomyces griseoviridis* et sa formulation, le biofongicide Mycostop, ont obtenu une homologation temporaire en vertu de l'article 17 du *Règlement sur les produits antiparasitaires*. Ce produit a été mis au point pour combattre les maladies du concombre, de la tomate, du poivron et de plantes d'ornement cultivés en serre. L'examen des données concernant ce produit a été effectué dans le cadre du Programme d'homologation des usages limités demandés par les utilisateurs (PHULDU).

Ce document donne un résumé des données évaluées et du fondement de la décision réglementaire applicable à ces produits.

(also available in English)

Le 22 mars 2000

Ce document est publié par la Division de la gestion des demandes d'homologation et de l'information, Agence de réglementation de la lutte antiparasitaire. Pour de plus amples renseignements, veuillez communiquer avec :

**Coordonnatrice des publications
Agence de réglementation de la lutte antiparasitaire
Santé Canada
I.A. 6606D1
2250, promenade Riverside
Ottawa (Ontario)
K1A 0K9**

**Internet : pmra_publications@hc-sc.gc.ca
www.hc-sc.gc.ca/pmra-arla/
Service de renseignements :
1-800-267-6315 ou (613) 736-3799
Télécopieur : (613) 736-3798**

Avant-propos

L'Agence de réglementation de la lutte antiparasitaire (ARLA) a accordé une homologation temporaire au biofongicide Mycostop dont l'utilisation est prévue pour combattre la fonte des semis, la pourriture des racines et de la tige et le flétrissement, causés par *Fusarium*, dans les plantes d'ornement et les légumes produits en serre, comme le concombre, la tomate et le poivron. L'examen des données concernant la matière active, la souche K61 de *Streptomyces griseoviridis*, et le biofongicide Mycostop, produits de la société Kemira Agro Oy, a été effectué dans le cadre du Programme d'homologation des usages limités demandés par les utilisateurs (PHULDU) de l'ARLA pour les raisons suivantes :

- C le Mycostop est déjà homologué aux États-Unis et dans plusieurs pays européens;
- C le Mycostop est composé d'un microorganisme présent naturellement dans le sol, ce qui donne un produit qui cadre bien avec un système de lutte intégrée.

L'homologation temporaire est conditionnelle à ce que la Kemira Agro Oy fournisse des données de confirmation. À la suite de l'examen de ces nouvelles données, l'ARLA publiera un projet de décision réglementaire et demandera les commentaires des parties intéressées avant de prendre une décision réglementaire finale.

Table des matières

1.0	Caractérisation et analyse du produit	1
1.1	Propriétés physico-chimiques de la préparation commerciale Mycostop	1
1.2	Utilisation	1
1.3	Propriétés biologiques de <i>Streptomyces griseoviridis</i>	2
2.0	Méthodes d'analyse	3
2.1	Analyse de la matière active ou de l'agent microbien antiparasitaire	3
2.2	Détection de contaminants microbiens	3
2.3	Détection d'autres ingrédients non voulus	4
3.0	Essais relatifs à la santé humaine et à l'innocuité du produit	4
3.1	Sommaire des études sur la toxicité et la pathogénéicité du Mycostop	4
3.2	Évaluation de l'exposition	4
3.3	Études sur les résidus dans les aliments destinés à la consommation humaine ou animale	5
3.4	Sommaire général des effets sur la santé humaine	5
4.0	Études sur l'écotoxicité	7
4.1	Sommaire de la toxicité et de la pathogénéicité du Mycostop pour des organismes non visés	7
4.2	Évaluation du risque écologique	7
4.2.1	Avifaune	7
4.2.2	Mammifères sauvages	7
4.2.3	Poisson	7
4.2.4	Arthropodes	8
4.2.5	Invertébrés autres que des arthropodes	9
4.2.6	Microorganismes	9
4.2.7	Végétaux non visés	10
5.0	Estimation de la valeur du produit	10
5.1	Données et renseignements sur l'efficacité du produit	10
6.0	Conclusions générales	12
6.1	Modifications de l'étiquette	14
7.0	Décision réglementaire	16
	Liste des acronymes	17
Annex I:	Sommaire des études sur la toxicité et la pathogénéicité du Mycostop	19
Annex II:	Sommaire de la toxicité et de la pathogénéicité du Mycostop pour des organismes non visés	21

1.0 Caractérisation et analyse du produit

1.1 Propriétés physico-chimiques de la préparation commerciale Mycostop

Propriété	Biofongicide Mycostop
État physique à 25 EC	Poudre fine; Solide à la température ambiante
Couleur	Brun à ocre; Munsell standard 2.5Y 9/2
Odeur	De poisson, putride, de bois, de levure, d'égout
pH dans l'eau distillée	Bouillie 1 % : 5,63; Bouillie 10 % : 5,17
Densité	459,4 kg/m ³
Viscosité	S. O.
Corrosivité	S. O.
Mise en suspension	Aucune évaluation réalisée
Teneur en humidité	Aucune évaluation réalisée
Stabilité à l'entreposage	3 mois à 28 EC

La garantie du biofongicide Mycostop est décrite comme 30 % de la souche K61 de *Streptomyces griseoviridis* au poids ou un minimum de 10⁸ cfu/g. Les spécifications du produit devraient normalement inclure les garanties minimales et maximales, en termes de cfu/g de produit, point qui peut être ajouté comme condition d'homologation. L'étiquette proposée du Mycostop indique une durée de conservation de 12 mois si le contenant est entreposé sans avoir été ouvert à moins de 8 EC. Toutefois, comme les données fournies sur l'entreposage ne portaient que sur une période de trois mois, l'étiquette devra être modifiée pour indiquer une période de stabilité à l'entreposage de trois mois. Il sera toujours possible de fournir, après l'homologation, des données pour appuyer une période de stabilité plus longue.

1.2 Utilisation

Le biofongicide Mycostop est un fongicide biologique contenant des spores et des mycéliums déshydratés de la matière active, la souche K61 de *Streptomyces griseoviridis*. Cette souche a été isolée en Finlande dans la tourbe de sphaigne. Le Mycostop est une formulation pulvérulente mouillable offrant une garantie de 1,0E+08 cellules souches (CFU) par gramme du produit. Il sera commercialisé en sachets métallisés. La matière active, la souche K61, n'a pas été mise au point par génie génétique ni modifiée par des méthodes de recombinaison nucléaire.

Le Mycostop a été homologué pour la première fois en 1990 en Finlande. Ensuite, il l'a été en Bulgarie, au Chili, au Danemark, en Estonie, au Guatemala, en Hongrie, en Islande, en Lettonie, en Norvège, en Suède, en Suisse, en Russie, en Espagne et aux Pays-Bas. Il a été homologué aux É.-U. pour la première fois en 1993. Une demande a été présentée au Canada, dans le cadre du PHULDU, pour faire homologuer le Mycostop pour combattre la fonte des semis, le pourridié fusarien, la pourriture fusarienne et la flétrissure fusarienne, ainsi que pour réprimer la pourriture pythéenne, le pourridié phytophthorien et le *rhizoctone* chez les plantes d'ornement et les fines herbes de serre, et chez les légumes de serre (concombre, tomate, poivron et laitue).

Les usages proposés comprennent le traitement des semences de laitue, d'autres légumes, de plantes d'ornement et de fines herbes, le traitement des milieux de culture de légumes et de plantes d'ornement (fleurs coupées et en pot), et celui des bulbes et des cormus. Le Mycostop doit être appliqué directement au niveau des racines de la plante, que ce soit par aspersion, par bassinage, par irrigation au goutte-à-goutte, par trempage ou par traitement des semences à des doses variables selon la culture et (ou) le stade de croissance de la culture à traiter (p. ex., 10 - 50 mg/plante, 2 - 10 mg/pot, 2 - 20 g/100 m², suspension à 0,01 %, 2 - 8 g/kg semences). En général, la dose est comprise entre 1,1 et 1,9 kg de produit à l'hectare (ha). Les traitements doivent être répétés à intervalles de trois à six semaines selon la pression exercée par la maladie et selon le substrat de croissance. Le nombre d'applications dépend de la durée de la saison de croissance et de la pression exercée par la maladie.

1.3 Propriétés biologiques de *Streptomyces griseoviridis*

La souche K61 de *Streptomyces griseoviridis* est une souche de bactéries vivant naturellement dans le sol qui appartient à la famille des Streptomycétacées, de l'ordre des Actinomycétales. Les streptomycètes sont largement répartis dans les habitats terrestres et aquatiques. On les trouve dans presque tous les types de sols. Le nombre de streptomycètes vivant dans le sol varie considérablement, tant en chiffres absolus qu'en proportion, selon le type de sol, le degré d'humidité, l'aération, le pH, la profondeur dans le sol, la teneur en matières organiques, les pratiques agricoles, le type de peuplement et la période de l'année. Le sol, le fourrage et les composts semblent constituer les réservoirs primaires de streptomycètes. La plupart sont des saprophytes stricts, mais certains forment des associations parasitiques avec des plantes ou des animaux. Les streptomycètes sont des microorganismes typiques des sols - leur population est plus élevée à hauteur de la rhizosphère qu'à de plus grandes profondeurs. On connaît étonnamment peu de chose du rôle des streptomycètes dans les milieux naturels malgré l'abondance des signes de leur présence et de leur nombre dans différents habitats. Des actinomycètes isolés dans différents types de sols, les streptomycètes dominent, et une partie importante de ceux-ci a la capacité de sécréter des antibiotiques restreignant la multiplication des autres microorganismes. Aucune donnée ni aucun renseignement spécifiques n'ont été fournis sur la présence à l'état naturel de la souche K61 sinon qu'en général, *S. griseoviridis* est une bactérie du sol qui marque une préférence pour les sols fortement humiques, mais qui peut aussi proliférer dans d'autres milieux.

En outre, les streptomycètes sont largement distribués dans les milieux aquatiques, mais il ne faut jamais écarter la possibilité qu'ils y soient entraînés dans l'eau à partir d'habitats terrestres. L'écologie des streptomycètes dans les milieux aquatiques n'est pas très bien connue, la majeure partie des études portant uniquement sur leur dénombrement par application de méthodes conçues pour la sélection de souches de sources terrestres. Des spores de streptomycètes peuvent être entraînées par l'eau jusque dans des habitats d'eau douce ou salée, mais il existe peu d'indications à l'effet qu'ils se multiplient dans les sédiments des cours d'eau ou des lacs, ou encore dans les sédiments marins.

Le mode d'action de la souche K61 de *S. griseoviridis* résulte d'une combinaison de mécanismes comprenant la colonisation de la rhizosphère avant l'arrivée du pathogène, la compétition pour occuper l'espace vital et pour les nutriments, la production de métabolites antifongiques, la lyse des parois cellulaires des pathogènes suivie de l'hyperparasitisme et la stimulation générale de la croissance végétale.

La souche K61 de *S. griseoviridis* dans le Mycostop est un biofongicide à effet préventif, non pas curatif. Lorsque la première application se fait assez tôt (p. ex., immédiatement après la transplantation), les streptomycètes colonisent la rhizosphère avant que les pathogènes ne le fassent. Par le fait même, ils les concurrencent efficacement sur le plan de l'occupation de l'espace et de l'accaparement des nutriments. Cette souche produit un composé polyénique antifongique en petites quantités, dont il a été déterminé qu'il s'agit d'un heptène. Ce composé agit efficacement pour empêcher la prolifération de nombreux pathogènes fongiques dans la rhizosphère. On sait que les heptènes se fixent aux stérols de la membrane cellulaire dont ils modifient la perméabilité aux ions. Les enzymes extracellulaires produites par les streptomycètes, comme la chitinase, décomposent complètement ou partiellement les parois cellulaires des pathogènes fongiques et peuvent donner lieu à l'hyperparasitisme.

La souche K61 de *Streptomyces griseoviridis* n'est étroitement apparentée à aucun pathogène connu d'animaux ou de plantes supérieures.

2.0 Méthodes d'analyse

2.1 Analyse de la matière active ou de l'agent microbien antiparasitaire

Le demandeur d'homologation a expliqué en détail les méthodes appropriées de détection, d'isolement et de numération des organismes constituant la matière active, soit la souche K61. Celle-ci est différenciée des autres bactéries et espèces de *Streptomyces* au moyen de méthodes d'analyse non moléculaire puisque les méthodes d'analyse moléculaire ne sont pas encore au point dans le cas des streptomycètes. Pour distinguer cette souche de différentes espèces, on emploie plutôt des critères comme le profil d'utilisation des substrats carbonés, la formation de pigments, la morphologie des colonies sur des milieux de culture standard, la morphologie des chaînes de spores et la structure superficielle des spores.

2.2 Détection de contaminants microbiens

Il est peu probable qu'il se produise une contamination par des organismes pathogènes chez l'humain et chez les animaux au cours de la préparation ou de la formulation du Mycostop. Chaque lot de production fait l'objet d'un contrôle au cours de la fermentation, par culture sur géloses, au moyen d'analyses au microscope et par des colorations Gram. Les cuves de fermentation sont régulièrement vérifiées par inspection visuelle pour s'assurer qu'il n'apparaît pas d'anomalies sur le plan de la couleur, de l'odeur et du moussage. Les essais par étalement sur géloses pour déterminer la viabilité de la matière active dans chaque lot de préparation commerciale déshydratée permettent également de détecter des contaminants microbiologiques. L'analyse du Mycostop, au moyen de méthodes microbiologiques standard et de milieux de croissance sélectifs, n'a révélé aucune contamination bactérienne ou fongique à des limites de détection < 10 CFU/g de produit déshydraté.

2.3 Détection d'autres ingrédients non voulus

Aucun métabolite toxique ni substance dangereuse connus sont présents dans la matière active de qualité technique ou dans la préparation commerciale. Tous les constituants du milieu de fermentation et tous les constituants de la formulation sont de qualité alimentaire. On peut donc considérer que les impuretés dans les matières brutes de fermentation et dans la formulation sont peu importantes. La pureté de l'agent antiparasitaire microbien (AAM) non formulé est assurée par rinçage du matériel avec une solution d'éthanol à 70 % avant son mélange avec les constituants de la formulation.

Même si l'on a pas détecté de toxines dans les produits de qualité technique ou les préparations commerciales contenant la souche K61 de *S. griseoviridis*, d'autres espèces de *Streptomyces* se sont avérées pathogènes pour les humains. Par conséquent, il est nécessaire de fournir d'autres données confirmant que la souche K61 de *S. griseoviridis* ne produit pas de toxines connues pour les mammifères. Une des conditions de l'homologation est la présentation, pour évaluation à l'ARLA, des résultats d'une recherche exhaustive de la littérature scientifique pour ce qui concerne *S. griseoviridis* et les toxines

3.0 Essais relatifs à la santé humaine et à l'innocuité du produit

3.1 Sommaire des études sur la toxicité et la pathogénéicité du Mycostop

Voir annex I.

3.2 Évaluation de l'exposition

Ce produit est en usage depuis plus de 16 ans en Finlande et ailleurs sans qu'il y ait eu de rapports d'effets nocifs chez les utilisateurs et d'autres travailleurs qui seraient exposés au produit dans des conditions opérationnelles normales. Cependant, les poussières

biologiques émises lors de la manutention de la préparation commerciale déshydratée peuvent être à l'origine d'hypersensibilité chez certaines personnes. Deux rapports d'hypersensibilité chez des travailleurs exposés par voie pulmonaire aux poussières biologiques ont été signalés. Les mesures de précaution recommandées n'avaient pas été appliquées et les réactions nocives ont été de courte durée. Le port d'un équipement de protection adéquat devrait abaisser ce risque pour les personnes qui manutentionnent et qui utilisent ce produit.

Les renseignements communiqués sur l'absence de toxicité marquée pendant l'usage et l'application du Mycostop signifie qu'il n'existe pas de pendant chez l'humain à la toxicité aiguë observée au niveau pulmonaire chez le rat, à l'exception peut-être des deux accidents où l'on a observé des réactions pulmonaires aux poussières biologiques chez l'humain. Ces cas et les effets pulmonaires observés chez le rat montrent qu'il faut porter un dispositif approprié de protection des voies respiratoires au cours des périodes d'exposition potentielle.

3.3 Études sur les résidus dans les aliments destinés à la consommation humaine ou animale

Une exemption à l'exigence de fixer, en vertu de la *Loi sur les aliments et drogues* (LAD) et son Règlement, une concentration limite pour les résidus sur et dans tous les produits agricoles bruts (PAB) est proposée dans le cas des résidus laissés par la souche K61 de *Streptomyces griseoviridis* lorsque ce produit est employé comme biofongicide pour le traitement des semences et des boutures de cultures en serre (concombre, tomate, poivron) et de plantes d'ornement. Compte tenu de la faible toxicité de cet organisme observée dans l'étude sur la toxicité aiguë et de l'absence de production de toxines connues pour les mammifères, une exemption à l'établissement d'une limite de concentration pour les résidus est justifiée. *Streptomyces griseoviridis* est un microorganisme naturel dans les sols et il ne colonise pas les parties aériennes des végétaux. De plus, le Mycostop est utilisé pour inoculer les milieux de croissance et les semences, et aucune partie comestible des plantes cultivées n'est traitée directement avec ce produit. Les essais effectués sur le concombre n'ont montré la présence d'aucun résidu en concentration détectable des microorganismes de la souche K61 de *S. griseoviridis*.

Même si un antibiotique hepténique s'apparentant à la candicidine et à l'amphotéricine a été identifié sous forme d'exsudat antifongique de la souche K61 de *S. griseoviridis*, de très faibles concentrations sont détectées dans la préparation commerciale (0,005 % p/p), et la production de ce composé dans le sol après l'application du Mycostop devrait rester à des concentrations comparables aux concentrations de fond dans les sols. D'ailleurs, les heptènes sont dégradés par la lumière visible et par les UV. De plus, comme on sait que les antibiotiques du type heptènes sont peu absorbés au niveau du tractus gastro-intestinal et qu'ils ne sont pas sources de préoccupations particulières sur le plan de la santé humaine, l'établissement d'une limite maximale de résidus en vertu de la *Loi sur les aliments et drogues* (LAD) et de son Règlement n'est pas justifiée dans le cas de ces

produits. L'inexistence d'effets nocifs chez les sujets d'expérience traités par des applications topiques ou orales de Mycostop confirme cette conclusion.

3.4 Sommaire général des effets sur la santé humaine

Malgré des lacunes sur le plan de la caractérisation du produit, l'ARLA a examiné et jugé acceptable le dossier, présenté par Kemira Agro Oy dans le cadre du PHULDU, qui accompagnait la demande d'homologation du biofongicide Mycostop contenant la bactérie de la souche K61 de *Streptomyces griseoviridis*. Les renseignements relatifs à la caractérisation de la matière active ainsi qu'au procédé de fabrication et au contrôle de qualité répondaient adéquatement aux préoccupations potentielles pour la santé et la sécurité des personnes en ce qui touche à la souche K61 de *S. griseoviridis* et aux contaminants bactériens ou fongiques qui auraient pu être introduits à l'étape de la production. L'ARLA reconnaît la validité des rapports d'évaluation des données (Data Evaluation Reports ou DER) de l'U. S. EPA selon lesquels la souche K61 de *S. griseoviridis* n'a pas d'effet pathogène ou infectieux chez des rats à qui on a appliqué une dose de 3,0E+09 CFU par voie orale. Aucune signe de toxicité ou de maladie ne s'est manifesté et la clearance au niveau du caecum a été démontrée. Dans l'essai sur la toxicité aiguë par la voie cutanée, l'organisme à l'essai n'était pas toxique pour des lapins à qui une dose unique de 2 g par kg était administrée. L'instillation intratrachéale de l'organisme à l'essai a conduit à des effets toxiques chez des rats à qui on avait administré une dose de 3,5E+07 CFU par sujet. L'organisme à l'essai a causé la mort de 54 % des mâles et de 48 % des femelles traités. L'organisme n'était ni pathogène ni infectieux. La DL₅₀ correspondant à l'injection intrapéritonéale de l'organisme à l'essai s'est chiffrée à 1306 mg/kg et à 870 mg/kg chez les mâles et chez les femelles de la souris, respectivement. Les signes cliniques s'étant tous résorbés au jour 3 de l'essai, on a considéré que cet organisme n'est pas infectieux. La toxicité était sans doute attribuable à la trop grande quantité de la substance à l'essai et à la forte taille de cet organisme. Les chercheurs ont observé une irritation bénigne de la conjonctive chez des lapins à qui ils ont administré l'organisme à l'essai par voie oculaire. Aucun signe d'infectivité n'a été observé. Au bilan, une sensibilisation cutanée modérée a été observée chez des cobayes au bout de 24 et de 48 h après leur traitement. Dans un essai de mutation inverse, la souche K61 de *S. griseoviridis* ne s'est pas révélée être toxique, et dans un dépouillement de la documentation scientifique, aucune étude n'a indiqué que d'autres souches produisaient des génotoxines. Deux articles sur l'hypersensibilité, peut-être attribuable à une exposition au produit, ont été signalés. Les mesures de précaution recommandées n'avaient pas été respectées. Ce produit est en usage en Finlande et dans d'autres pays depuis plus de 16 ans sans que des effets nocifs n'aient été signalés chez les utilisateurs et d'autres travailleurs qui auraient été en contact avec le produit dans des conditions normales d'opération.

On propose d'exempter la souche K61 de *S. griseoviridis* de l'établissement d'une limite maximale de résidus (LMR) dans ou sur tous les produits agricoles bruts lorsqu'elle est utilisée comme fongicide pour le traitement des semences, des boutures, des jeunes plants repiqués et des plantes alimentaires de culture obtenues en serre. Compte tenu de la faible

toxicité dont a fait montre cet organisme dans les études de premier niveau sur la pathogénéicité et la toxicité pour les mammifères, une exemption à l'établissement d'une LMR est justifiée.

Les constituants du biofongicide Mycostop sont de qualité alimentaire et ne sont à l'origine d'aucune préoccupation d'ordre toxicologique.

4.0 Études sur l'écotoxicité

4.1 Sommaire de la toxicité et de la pathogénéicité du Mycostop pour des organismes non visés

Voir Annex II.

4.2 Évaluation du risque écologique

4.2.1 Avifaune

Les études de pathogénéicité et de toxicité par la voie orale chez le colin de Virginie et chez le colvert n'ont mis en lumière aucune toxicité ou pathogénéicité attribuable au traitement à des doses totales atteignant 12 500 mg/kg m. c. ($1,22E+10$ CFU/kg) administrées à raison de 2500 mg/kg m. c. par jour pendant 5 jours consécutifs. Il a été déterminé que la DL_{50} aiguë administrée par voie orale est supérieure à 2500 mg/kg m. c. On juge que le produit est pratiquement non toxique pour ces deux espèces.

Ces études indiquent que le Mycostop est pratiquement non toxique pour l'avifaune terrestre ou pour l'avifaune aquatique. Comme il est prévu que ce produit doit être appliqué uniquement en serre, la possibilité d'exposition directe de l'avifaune à la souche K61 de *S. griseoviridis* est extrêmement mince. Par conséquent, on prévoit que l'utilisation proposée de ce produit ne fera courir aucun risque à l'avifaune

4.2.2 Mammifères sauvages

Les données présentées à la partie M4, *Human Health and Safety* (Essais relatifs à la santé humaine et à l'innocuité du produit), montrent qu'il n'existe pas de toxicité importante pour les rongeurs soumis à une exposition aiguë par la voie orale à la dose maximale de danger. À la lumière de ces résultats, et compte tenu du fait que le produit est utilisé en serre uniquement, on estime que le risque pour les mammifères à l'état sauvage va de minime à non existant.

4.2.3 Poisson

Dans le cadre d'une étude de 30 jours en milieu statique avec remplacement de l'eau sur la pathogénéicité et la toxicité pour la truite arc-en-ciel, les chercheurs ont établi la CL_{50} à plus de 12,4 mg/L ($7,1E+05$ CFU/mL), et la CSEO à 8,7 mg/L

(5,0E+04 CFU/mL). Il n'y avait aucun signe d'infectivité. La CL₅₀ montre que le Mycostop est légèrement toxique pour la truite arc-en-ciel.

Au Canada, il est difficile de prévoir quelle partie de l'habitat aquatique serait exposée aux produits appliqués en serre. Ce terme de « serre » est un peu ambigu, et c'est pourquoi il est à l'origine de problèmes. Le terme de serre peut tout autant s'appliquer à des serres proprement dites, en verre et très bien isolées du milieu, qui couvrent plusieurs acres, ou à des abris ouverts en lattis, couvrant de petites surfaces uniquement. Du fait de la grande variété de formes possibles d'exposition à l'AAM dans l'eau de ruissellement ou dans l'eau d'infiltration provenant des serres, particulièrement suite à l'irrigation goutte-à-goutte, et parce que les populations de la souche K61 de *S. griseoviridis* peuvent survivre dans les milieux aquatiques, certains organismes aquatiques non visés risquent d'être exposés. Ces cas d'exposition seraient sûrement moins importants si les usages prévus de l'agent se cantonnaient à des sols, des plantes et des semences placés dans des espaces confinés, et si l'eau de ruissellement pouvait être contenue de façon adéquate. Les serriculteurs commerciaux les plus importants utilisent probablement des systèmes automatiques d'arrosage, que ce soit par irrigation, par des tubes en spaghetti ou par irrigation goutte-à-goutte, de telle sorte que l'arrosage des cultures au point de produire du ruissellement n'est peut-être pas si fréquent. Et lorsqu'il s'en produit, il est fortement probable que la majeure partie de l'AAM sera drainée ou va percoler dans le sol sous les serres ou à proximité. En outre, puisque les streptomycètes sont en grande partie confinés à la rhizosphère, il est moins probable que la souche K61 de *S. griseoviridis* puisse être trouvée à plus grande profondeur d'où elle pourrait percoler jusque dans l'eau souterraine.

De manière à atténuer le risque pour le poisson associé au Mycostop, le profil d'emploi de ce produit figurant sur l'étiquette devrait préciser de se limiter aux sols et aux plantes placés dans des espaces confinés, ou au traitement des semences. Un énoncé sur le danger pour l'environnement devrait être ajouté sur l'étiquette, précisant que ce produit est toxique pour le poisson.

4.2.4 Arthropodes

Dans le cadre d'une étude sur la pathogénéicité et sur la toxicité pour l'abeille domestique du produit administré dans le régime alimentaire, les chercheurs ont observé que la CL₅₀ est supérieure à 2400 mg/L (2,4E+06 CFU/mL). Ce résultat montre que le Mycostop est pratiquement non toxique pour cette espèce. Même si cette étude avait uniquement valeur d'étude complémentaire à cause d'une mortalité non spécifique chez les témoins, il demeure que les résultats sont assez fiables pour indiquer une faible probabilité d'effets nocifs. L'essai de l'AAM sur d'autres arthropodes utiles (prédateurs et parasites), pour déterminer sa pathogénéicité et sa toxicité, ne figurait pas dans la demande.

Puisque, dans les usages prévus, il y a les applications dirigées par bassinage et par irrigation goutte-à-goutte, et les traitements de semences en serre, la possibilité qu'une population naturelle d'arthropodes soit directement exposée à l'AAM est très faible. Bien

qu'il soit difficile de caractériser ou d'évaluer les risques associés à la souche K61 de *S. griseoviridis* sans obtenir davantage de données sur sa pathogénécité et sa toxicité, il semble toutefois peu probable que l'exposition involontaire produise des effets nocifs irréversibles sur des arthropodes utiles lâchés dans le milieu, s'il faut se fier aux renseignements limités que nous détenons sur l'écologie des streptomycètes dans les sols.

Dans une étude sur la pathogénécité et la toxicité pour l'invertébré aquatique *D. magna*, en conditions statiques ou avec renouvellement de l'eau, les chercheurs ont constaté que la CE₅₀ se chiffrait à 190 mg/L (1,9E+05 CFU/mL). Cela nous apprend que le Mycostop est pratiquement non toxique pour les invertébrés aquatiques. Toute exposition aquatique attribuable à des eaux de ruissellement provenant de serres ne fera probablement pas courir de risque aux invertébrés aquatiques.

4.2.5 Invertébrés autres que des arthropodes

Dans une étude de 14 jours sur la toxicité pour le lombric, les chercheurs n'ont observé aucune mortalité attribuable au traitement, ni aucun autre effet nocif. La CSEO est supérieure à 1000 mg/kg sol, soit la plus forte concentration testée. Il n'y a pas eu d'examen critique de l'étude parce qu'il n'a pas été déclenché en vertu des exigences en vigueur relatives à l'homologation de produits antiparasitaires microbiens. Compte tenu du fait que le mode d'emploi parle d'applications dirigées en serre, et compte tenu du fait que les espèces du groupe des *Streptomyces* comprennent une proportion importante des populations microbiennes indigènes des sols, on juge que le risque pour les invertébrés autres que les arthropodes va de faible à inexistant. Cette conclusion se trouve d'autant plus confirmée si on accepte que les résultats de l'étude sur la toxicité sont une indication de la toxicité de la souche K61 de *S. griseoviridis* pour le lombric. Par exemple, la concentration prévue dans l'environnement (CPE), soit dans le sol, le cas échéant, après une application directe du produit à la plus forte concentration proposée sur l'étiquette, soit 20 g/100 m², et en prenant pour hypothèse une profondeur de sol de 15 cm ainsi qu'une densité de 1,5 g/cm³, s'élèverait à 0,89 mg/kg. Cette CPE dans le sol est inférieure par trois ordres de grandeur à la CSEO dans le cas du lombric. Cela signifie que le Mycostop présenterait un très faible risque pour les invertébrés terrestres autres que des arthropodes s'il se produisait un ruissellement à partir des serres.

4.2.6 Microorganismes

Une demande d'exemption des essais sur les microorganismes a été présentée en faisant valoir que les microorganismes de la souche K61 de *S. griseoviridis* existent à l'état naturel dans le sol et qu'ils vivent en équilibre avec d'autres microorganismes du sol. Aucun effet nocif n'a été observé sur les microorganismes non visés qui ont été exposés à cet AAM lors des essais au champ et lors de son utilisation. En outre, les chercheurs ont établi que dans la rhizosphère, l'AAM est fongistatique ou réprime un nombre limité de champignons phytopathogènes. Enfin, des données sur la compatibilité du Mycostop avec deux autres biofongicides ont été présentées.

La justification présentée est assez fondée pour que l'exemption soit accordée en ce qui regarde les essais sur des microorganismes du sol dans le cas des applications prévues en serre de la souche K61 de *S. griseoviridis* même s'il est prévu que l'AAM exerce des effets néfastes sur d'autres microorganismes utiles du sol, particulièrement les champignons. Puisque ce produit est destiné à être appliqué en serre, le risque d'exposition importante d'environnements terrestres est relativement faible et il est peu probable que des effets nocifs irréversibles sur des microorganismes utiles du sol apparaissent à la suite d'expositions imprévues.

4.2.7 Végétaux non visés

Aucun essai n'a été effectué sur des espèces végétales aquatiques ou terrestres non visées. Les exemptions concernant les essais sur les plantes se fondaient sur le raisonnement selon lequel la souche K61 de *S. griseoviridis* est une souche d'un microorganisme trouvé à l'état naturel dans le sol et qu'aucun effet nocif n'a été observé chez les plantes exposées à cet organisme lors des essais au champ aux É.-U. et en Finlande. Sur plus de 150 végétaux sur lesquels la toxicité du Mycostop a été testée, une légère réduction de la germination chez des variétés choisies de maïs sucré, chez la plante d'ornement *Centaurea cineraria* (Dusty Miller) et chez le melon brodé après une application du produit comme traitement des semences seulement ou comme traitement des semences suivi d'un traitement par bassinage ou d'une aspersion au sol, est le seul effet phytotoxique observé. Compte tenu de l'absence de toxicité et de pathogénéicité du Mycostop pour une vaste gamme de types végétaux, ainsi que de la faible probabilité que les semences des végétaux non visés soient exposées au produit à la suite d'applications en serre, il a été jugé inutile de faire procéder à des essais additionnels pour prouver que le Mycostop présente peu de risque pour les végétaux non visés.

5.0 Estimation de la valeur du produit

5.1 Données et renseignements sur l'efficacité du produit

Le biofongicide Mycostop est un inoculat anhydre contenant 1×10^8 CFU/g de la souche K61 de *S. griseoviridis*, sous forme de spores et de mycéliums. Le produit est appliqué sous forme de traitement pulvérulent des semences ou en suspension dans l'eau pour l'aspersion des semis, pour le trempage des bulbes, pour l'irrigation goutte-à-goutte des sols ou pour le traitement par bassinage. Il doit être utilisé en serre uniquement.

Ce produit est proposé pour lutter ou supprimer des maladies transmises du sol au concombre, à la tomate, au poivron, à la laitue et aux plantes d'ornement en serre. Les allégations des étiquettes disent que le produit :

- C Promeut la croissance et le rendement des plantes, même dans les cultures en bon état.
- C Permet de lutter contre la fonte des semis, le pourridié fusarien, la pourriture fusarienne et la flétrissure fusarienne.

- C Permet la répression de la pourriture pythéenne, du pourridié phytophthorien et du rhizoctone.

Le Mycostop est appliqué à l'état déshydraté comme traitement des semences ou en suspension dans l'eau, sous forme d'une aspersion au sol, d'un traitement par bassinage, d'irrigation goutte-à-goutte ou par trempage. Les doses proposées sont les suivantes :

- C 5 - 50 mg du produit par plante dans la laine minérale ou des pots
- C 2 - 20 g du produit par 100 m² du milieu de croissance sur des lits
- C 0,01 % en suspension pour le trempage des bulbes, des cormus ou des boutures
- C 2 - 8 g du produit par kg de semences.

Présentement, on combat les pathogènes transmis du sol par le traitement à la vapeur (pasteurisation) du mélange servant de milieu de croissance, par le traitement à l'eau chaude des semences ainsi que par des pratiques sanitaires en serre comme l'enlèvement de tous les débris végétaux, la désinfection du matériel, une ventilation et un drainage efficaces ainsi que des conditions d'éclairage et d'humidité ajustées. Il existe plusieurs produits chimiques pour le traitement des sols en serre et, en outre, il existe certains cultivars tolérants ou résistants aux maladies causées par *Fusarium*. L'acquisition de la résistance, le besoin de multiples applications dans les systèmes de production presque continue et l'incompatibilité avec l'emploi de la lutte biologique (insectes) sont des limites des produits homologués.

Pour étayer la demande d'homologation du Mycostop, 14 essais ont été soumis où la présence de *Fusarium* sp. était confirmée sur le concombre, le poivron, la tomate, l'oignon, le cyclamen, la primevère ou le narcisse. Le Mycostop, appliqué sous forme d'aspersion du sol ou par bassinage aux doses proposées (5 - 50 g/plante, 10 - 20 g/m² de sol), a permis de réduire efficacement le pourridié des racines, la flétrissure, le rabougrissement et la mort des plantules, ainsi que d'abaisser les populations de *Fusarium* à proximité des racines. Le rendement des plants traités était ordinairement amélioré (jusqu'à 132 % en comparaison des témoins). De plus, le traitement des semences a contribué efficacement à l'émergence et au rendement. Ces effets sont comparables aux résultats obtenus au moyen de traitements chimiques. La dose et la période de traitement retenues étaient semblables aux doses et périodes recommandées, quoique un intervalle de deux semaines ait été appliqué dans certains essais.

Deux méthodes d'application ont été refusées : il n'a pas été établi que le trempage des bulbes (narcisse) et que celui des boutures (oignon) dans des solutions de Mycostop constituaient un traitement efficace en soi pour réduire la maladie. En outre, on a observé que ces traitements étaient nuisibles dans certains cas (voir ci-après).

Les chercheurs ont fait état de neuf essais où *Pythium*, *Phytophthora* et *Rhizoctonia* étaient présents sur le concombre, le poivron, la pervenche ou la semence de chou-fleur, de chou et de colza. Ces comptes rendus indiquent que le Mycostop peut avoir un effet répressif potentiel, mais il n'est pas considéré que les rapports sont adéquats, faute d'une

pression suffisante de la maladie et à cause de l'inexistence de méthodes détaillées ou de résultats incohérents.

En général, les chercheurs n'ont pas observé de réduction de l'émergence ou d'autres symptômes de phytotoxicité ou de pathogénéicité lors des essais sur l'efficacité du produit sur différentes cultures. En principe, le traitement au Mycostop hausse la population de cette souche de *Streptomyces* dans le sol par moins de 0,1 %. Le demandeur signale que la concentration revient à sa normale au bout de plusieurs mois.

Des réactions nocives ont été signalées dans des cas précis. Ainsi, il est mentionné que de tremper des boutures d'oeillets dans des suspensions de Mycostop à une concentration supérieure à 0,01 % pourrait être phytotoxique, et que, dans des essais où il a été appliqué, ce traitement diminue la hauteur atteinte par les plantes, leur poids ainsi que leur production florale, même à une concentration de 0,01 %. L'entreprise a également indiqué qu'à des doses de 5 g et de 8 g/kg de semence de laitue ou de 8 g/kg de semence de gerbera ou de poivron, le traitement avec le produit déshydraté entraîne une baisse de l'émergence. Toutefois, elle n'a pas fourni de données sur ces types de semences. C'est pourquoi il n'est pas recommandé de faire figurer ces traitements sur l'étiquette. Devant l'impossibilité de tester toutes les plantes d'ornement, et par précaution, on devrait recommander au producteur de tester la réaction au Mycostop de tout nouveau cultivar avant d'appliquer ce produit à l'échelle commerciale.

Mis à part le trempage des boutures, le Mycostop n'a pas d'effet ou a un effet bénéfique sur le rendement (p. ex., de 10 - 12 % dans le cas du traitement des semences), même en l'absence de pathogènes connus. L'allégation voulant que le produit favorise la croissance et le rendement des plantes en santé est acceptable.

L'allégation de lutte contre la fonte des semis, du pourridié fusarien, de la pourriture fusarienne et de la flétrissure fusarienne est acceptée pour le concombre, le poivron, la tomate et les plantes d'ornement aux doses proposées. Le trempage des boutures et celui des bulbes n'est pas recommandé. L'utilisation pour le traitement des semences est acceptée, à l'exception de la laitue, de gerbera et du poivron. L'allégation de la promotion de la croissance et du rendement chez les plantes en santé est acceptée.

On ne croit pas que le Mycostop puisse faire l'objet d'une résistance, mais il contribue à abaisser les populations de pathogènes qui, autrement, pourraient acquérir de la résistance aux fongicides chimiques. On devrait éviter de le mélanger en cuve directement avec des fongicides, mais il devrait être compatible avec les produits qui seraient d'usage courant en production serricole. Le producteur pourra se procurer auprès du fabricant une liste des produits dont la compatibilité avec le Mycostop a été mise à l'essai au laboratoire.

6.0 Conclusions générales

Les études effectuées sur la pathogénicité et sur la toxicité montrent que la matière active n'est ni pathogène ni infectieuse pour les animaux traités. La souche K61 de

Streptomyces griseoviridis n'est pas toxique lorsque administrée par la voie orale ou par la voie cutanée. Une sensibilisation modérée de la peau de cobayes traités est observée au bout de 24 h et de 48 h après le traitement. Lors de l'étude primaire sur l'irritation oculaire, le produit a provoqué une légère irritation de la conjonctive chez le lapin. Il existe deux rapports d'hypersensibilité attribuable à l'exposition à la poussière biologique, mais dans les deux cas, les personnes n'avaient pas appliqué de mesures de protection.

Des rats traités sont morts lors de l'essai sur la pathogénéicité et la toxicité aiguë pulmonaires, ainsi que des souris lors de l'essai sur la pathogénéicité et la toxicité aiguë par traitement intrapéritonéal. La forte taille du microorganisme (matière active) et la grande quantité du matériel d'essai administrée aux sujets par voie intrapéritonéale ont fortement influé sur la toxicité de ce microorganisme. Toutefois, ses dimensions ne semblent pas avoir constitué le principal facteur de mortalité lors de l'essai par voie pulmonaire. L'autopsie et les observations histopathologiques montrent l'existence d'une grave réaction pulmonaire à la présence de l'organisme vivant. La forte mortalité observée soulève des préoccupations relatives à l'exposition par la voie pulmonaire à des quantités importantes de l'organisme pendant la manutention et l'utilisation du produit. Par conséquent, sur l'étiquette il faut prévenir l'utilisateur de porter un respirateur à filtre antipoussières et antibrouillard (MSHA/NIOSH TC-21C) pour la manutention du produit. La concentration correspondant à l'exposition maximale de personnes au produit étant considérablement inférieure aux concentrations qui ont provoqué la mortalité chez les rats, l'utilisation de cet organisme ne devrait pas se produire d'effets nocifs sur la santé humaine.

Il n'a pas été nécessaire d'obtenir des données sur la pathogénéicité et sur la toxicité à court terme du produit proposé pour homologation, de même que sur l'établissement de LMR pour les cultures vivrières en vertu des exigences en vigueur, puisque cet organisme existe naturellement et que les résultats des essais toxicologiques de niveau I n'atteignaient pas les valeurs de référence à partir desquelles il faut procéder à d'autres essais ou établir des LMR. L'exemption d'établissement d'une LMR pour la matière active microbienne comme pour un composé hepténique participant au mode d'action de la matière active est recommandée.

Les études présentées sur les effets sur l'environnement montrent que la souche K61 de *S. griseoviridis* est pratiquement non toxique pour l'avifaune terrestre ou aquatique, les invertébrés aquatiques et l'abeille domestique. Le produit est légèrement toxique pour le poisson d'eau douce *Onchorhynchus mykiss* (truite arc-en-ciel). Cet effet est assez marqué pour donner lieu à des préoccupations relatives à l'exposition des habitats aquatiques à des quantités importantes de l'organisme à l'essai. Par conséquent, l'étiquette du produit doit prévenir l'utilisateur d'éviter de contaminer les étendues d'eau.

Une étude portant sur la toxicité à court terme pour le lombric a été présentée, mais n'a pas fait l'objet d'un examen, car elle n'était pas nécessaire en vertu des exigences en vigueur concernant l'homologation. Les évaluateurs disposaient d'assez de

renseignements et de données sur le mode d'action des streptomycètes contre les champignons phytopathogènes ainsi que sur l'absence de tout effet nocif d'autres souches de *S. griseoviridis* sur les invertébrés autres que des arthropodes, pour arriver à la conclusion que le produit ne risque pas de nuire aux populations d'invertébrés autres que des arthropodes dans les écosystèmes terrestres ou aquatiques. Les exigences relatives aux essais sur les microorganismes non visés ont été mises de côté puisque *S. griseoviridis* est une bactérie commune dans les sols, distribuée partout sur la planète et que le produit est destiné à des applications dirigées, par aspersion, par bassinage, par irrigation au goutte-à-goutte, par trempage ou par traitement des semences, en serre, où la possibilité que des communautés bactériennes naturelles soient exposées à la bactérie sont sans doute minimales. Les exigences relatives aux essais sur les végétaux non visés ont été mises de côté à cause du manque de pathogénécité pour une grande variété de plantes de culture. Une légère baisse de la germination a été observée chez certaines variétés de maïs sucré, chez la plante d'ornement *Centaurea cineraria* (Dusty Miller) et chez le melon brodé lorsque le produit était appliqué comme traitement des semences. Cependant, comme les plantes non visées ne seraient pas exposées de telle façon, la poursuite des essais a été jugée inutile. Pour l'examen des incidences sur les mammifères à l'état sauvage, les études toxicologiques menées sur des sujets de laboratoire ont montré que, lors des essais sur la toxicité aiguë par voie orale à la dose de danger maximale, le produit n'exerce pas de toxicité importante sur les rongeurs, de sorte qu'on pense que le risque couru par les mammifères à l'état sauvage par exposition au produit doit être minime.

Il y a assez de renseignements et de données sur les effets écologiques pour étayer l'homologation de la souche K61 de *S. griseoviridis* et de sa préparation commerciale, le biofungicide Mycostop, en ce qui touche aux traitements par bassinage ou par irrigation goutte-à-goutte de légumes et de plantes d'ornement, ainsi qu'au traitement des semences de légumes dans les serres commerciales. D'autres études ou données complémentaires ne sont pas nécessaires pour compléter l'évaluation du risque environnemental associé au produit. Il n'a pas été nécessaire d'obtenir des données écotoxicologiques avancées (c.-à-d. du niveau II) ou des données sur le devenir du produit dans l'environnement, en vertu des exigences en vigueur, puisque les résultats des essais de niveau I n'atteignaient pas les valeurs de référence à partir desquelles il faut procéder à d'autres essais.

Il a été établi que le Mycostop atténue efficacement les symptômes attribuables à *Fusarium*. Cependant, il n'y a pas assez d'études pour confirmer son efficacité contre *Pythium*, *Phytophthora* et *Rhizoctonia*. Les doses appliquées au cours des essais correspondaient assez bien aux recommandations de l'étiquette, et l'intervalle d'application, aux trois à six semaines, est approprié aux traitements. Les méthodes par aspersion, par bassinage et par traitement des semences sont acceptables. Les plants de tomate, de poivron et de concombre, les plantes d'ornement cultivés en serre et différentes semences (exception faite de la laitue, de gerbera et du poivron) constituent des cultures hôtes acceptables. Le Mycostop est le plus efficace s'il est appliqué avant l'infestation et si le traitement se poursuit pendant la majeure partie de la période de

production. En outre, le Mycostop a un effet limité, mais bénéfique sur la croissance des plantules en l'absence de pathogènes spécifiques.

On considère que l'homologation du Mycostop est acceptable pourvu que le titulaire fournisse les données de confirmation notées aux sections 1.1 et 2.3 et 7.0.

6.1 Modifications de l'étiquette

À la lumière des évaluations susmentionnées, les changements suivants ont été apportés à l'étiquette du Mycostop. Sous la rubrique « Précautions » de l'étiquette, l'énoncé se lit maintenant comme suit :

« Porter une chemise à manches longues, un pantalon, des chaussures et des chaussettes, des gants résistants aux produits chimiques, des verres et un masque antipoussières (MSHA/NIOSH TC-21C) pour la manutention, le mélange et le transvasement ou l'application du produit, ainsi qu'au cours de toutes les activités de nettoyage ou de réparation du matériel. Ne pas pénétrer et ne pas laisser pénétrer quiconque dans les aires traitées pendant 4 heures à la suite d'un traitement, sauf si on porte une chemise à manches longues, un pantalon, des chaussures et des chaussettes, des gants résistants aux produits chimiques, des verres et un masque antipoussières. »

Dans la mention « Renseignements toxicologiques » de l'étiquette, la phrase suivante « Ce produit contient des spores et des mycéliums d'un actinomycète n'ayant aucun effet nocif connu sur la santé humaine. » a été retirée puisqu'elle est trompeuse et qu'elle est en contradiction avec les préoccupations à l'origine de l'énoncé précédent.

Faute de données sur la stabilité à l'entreposage à 8 EC, la durée de conservation a été fixée à trois mois au maximum puisque cet intervalle correspond à la seule période vérifiable pour laquelle le demandeur d'homologation a fourni des données sur l'entreposage.

La souche K61 de *S. griseoviridis* étant légèrement toxique pour le poisson, les directives d'emploi figurant sur l'étiquette sont limitées aux applications dirigées sur des sols, des plantes et des semences placés dans des espaces confinés, qui sont destinés uniquement aux cultures de production. En outre, une rubrique distincte, intitulée « Risques pour l'environnement », a été ajoutée pour indiquer que ce produit est toxique pour le poisson :

« RISQUES POUR L'ENVIRONNEMENT : Ce produit est toxique pour le poisson. Ne pas appliquer directement sur l'eau ou sur des secteurs où existe une étendue d'eau superficielle. Ne contaminer aucun plan d'eau au moment d'éliminer l'eau de rinçage du matériel. »

À la rubrique *Instructions pour le mélange*, l'allégation que « *Mycostop est sans danger pour les insectes utiles* » a été retirée puisqu'il n'existe pas de données sur la pathogénéicité et la toxicité de la souche K61 de *S. griseoviridis* pour les arthropodes utiles non visés (c.-à-d. prédateurs et parasites) autres que l'abeille domestique.

Les directives relatives à l'utilisation du produit sur la laitue ont été retirées de l'étiquette, ainsi que celles sur le trempage des boutures dans une suspension à 0,01 %, et le trempage des bulbes et des cormus dans une suspension à 0,01 % avant la plantation. La liste des pathogènes touchés a été limitée à *Fusarium*.

Les directives de l'étiquette sur le traitement des milieux de croissance ont été modifiées. L'énoncé se lit maintenant comme suit :

« Pour la production de semis, appliquer le premier traitement par aspersion après l'émergence en prenant la dose la plus faible. Il est établi que le Mycostop est sans danger pour les plantes d'ornement courantes. Cependant, il est impossible de tester tous les cultivars, et certains peuvent manifester un retard de germination ou de croissance. Il faudrait commencer par tester le Mycostop sur un petit lot de plantes, si la réaction de la variété est inconnue, avant d'appliquer ce produit à l'échelle commerciale. »

7.0 Décision réglementaire

L'ARLA a accordé une homologation temporaire au biofongicide Mycostop jusqu'au 31 décembre 2000 en vertu de l'article 17 du *Règlement sur les produits antiparasitaires* à la condition que les données mentionnées ci-dessous soient fournies :

CODO M 2.7.2 Propriétés biologiques de l'AAM

Recherche en profondeur de la littérature scientifique visant à confirmer que la souche K61 de *S. griseoviridis* ne produit pas de toxines connues pour les mammifères.

CODO M 2.9.1 Spécifications du produit

Les plus récentes spécifications du produit indiquant les limites minimales et maximales de l'agent microbien actif exprimées en cfu/g matière sèche.

CODO M 2.11

Si on indique une période d'entreposage supérieure à trois mois sur l'étiquette, il faut présenter des données pour appuyer la stabilité à l'entreposage à moins de 8 EC pour la période proposée.

Liste des acronymes

CE ₅₀	Concentration avec effet 50 %
CFU (colony forming units)	Cellules souches
CL ₅₀	Concentration létale 50 %
CMM	Cote moyenne maximale
CPE	Concentration prévue dans l'environnement
CSENO	Concentration sans effet nocif observable
CSEO	Concentration sans effet observable
DL ₅₀	Dose létale 50 %
DSENO	Dose sans effet nocif observable
DSEO	Dose sans effet observable
m.c.	Masse corporelle
PHULDU	Programme d'homologation des usages limités demandés par les utilisateurs
SEO	Seuil d'effets observables

Annex I: Sommaire des études sur la toxicité et la pathogénécité du Mycostop

Étude	Espèce/souche et doses	DL ₅₀ , DSEO/DSENO et SEO*	Organes cibles, effets significatifs, commentaires
Études sur la toxicité aiguë			
Orale	Rat, CD, 11/sexe 3,0E+09 CFU/animal	DL ₅₀ > 3,0E+09 CFU/animal	Agent éliminé du tractus gastrointestinal en moins de trois jours après l'administration de la dose. Jamais détecté dans l'urine, le sang ou les organes. Aucune mort, pas de signes cliniques de toxicité ou de pathogénécité ni d'infectivité. NI TOXIQUE NI PATHOGÈNE
Pulmonaire	Rat, CD, 60/sexe mâles : 3,5E+07 CFU/animal femelles : 3,02E+07 CFU/animal	DL ₅₀ # 3,5E+07 CFU/animal (mâles) DL ₅₀ \$ 3,02E+07 CFU/animal (femelles)	Mortalité élevée chez les mâles (54 %) et chez les femelles (48 %) traités avec l'AAM vivant. L'autopsie a révélé des signes d'irritation des poumons (rougeur et inflammation tissulaires et autolyse) et dans les voies respiratoires. L'observation histopathologique a aussi révélé des signes d'une grave réaction pulmonaire à l'AAM. L'élimination rapide dans les poumons et l'absence de l'AAM dans les liquides organiques, les organes et les tissus de tous les sujets semblent indiquer que l'AAM risque peu d'être un pathogène. TOXIQUE, MAIS NON PATHOGÈNE
Injection	Injection intraperitonéale souris, CD-1, 5/sexe/groupe, 5000, 1000, 500 et 100 mg/kg m. c. (équivalent à 3,1 – 3,9E+06, 5,5 – 7,4E+06, 2,9 – 3,9E+06 et 5,8 – 7,7E+05 CFU/animal)	DL ₅₀ = 1306 mg/kg m. c. (mâles) DL ₅₀ = 870 mg/kg m. c. (femelles)	5000 mg/kg m. c. : 100 % mortalité chez les mâles et chez les femelles. 1000 mg/kg m. c. : 40 % mortalité chez les mâles. 500 mg/kg m. c. : 40 % mortalité chez les femelles. Observations cliniques : fourrure mal lissée, léthargie, dos voûté, yeux fermés, respiration laborieuse, sécrétions oculaires, lésions sous-cutanées chez les mâles et les femelles. Tous les signes étaient disparus au jour 4; donc, l'AAM n'a pas été jugé être infectieux. La grande taille de l'AAM et la dose administrée aux sujets a fortement influé sur la toxicité. TOXIQUE, MAIS NON PATHOGÈNE

Étude	Espèce/souche et doses	DL ₅₀ , DSEO/DSENO et SEO*	Organes cibles, effets significatifs, commentaires
Irritation et toxicité pour la peau	Lapin, NZW, 5/sexe, 2 g/kg m. c. (équivalent à 2,9E+09 CFU/kg m.c.)	DL ₅₀ > 2 g/kg m.c.	Pas de mortalité, de signe de toxicité systémique ou d'irritation cutanée. NI TOXIQUE NI IRRITANT
Irritation des yeux	Lapin, NZW, 6 mâles, dose 100 mg (équivalent à 1,46E+08 CFU)	Cote moyenne maximale (CMM) = 6/110 (après 1 h) CMM = 4/110 (au jour 1)	LÉGÈREMENT IRRITANT
Sensibilisation de la peau (essai de maximisation Magnusson-Kligman)	Cobaye, Dunkin-Hartley, 20 femelles, injection sous-cutanée substance à l'essai à 5 % (induction), suivie d'une application topique à 50 % (provocation). Pas de témoin positif.	Après 48 h, 55 % des sujets manifestaient des signes cutanés positifs, 4 d'entre eux portant de légères plaques de rougeur confluentes ou modérément irrégulières, 7 ayant des rougeurs modérées.	MODÉRÉMENT SENSIBILISANT
Mutagenécité			
<i>Salmonella</i> , essai d'Ames	<i>S. typhimurium</i> TA 98, TA 100, TA 1535, TA 1537, TA 1538	5, 15, 50, 150 et 500 Fg/plaque, ±S9	Négatif

- * DL₅₀ : Dose létale 50 %
DSEO : Concentration sans effet observable
DSENO : Concentration sans effet nocif observable
SEO : Seuil d'effets observables
m.c. : masse corporelle

Annex II: Sommaire de la toxicité et de la pathogénécité du Mycostop pour des organismes non visés

Étude	Espèce/souche et doses	DL ₅₀ , DSEO/DSENO et SEO*	Organes cibles, effets significatifs, commentaires
Études de niveau I			
Oiseau, orale de 30 jours	Colin de Virginie (<i>Colinus virginianus</i>), 30 sujets, 2500 mg/kg m. c. (égal à 2,45E+09 CFU/kg m. c.) par jour pendant 5 jours consécutifs	DL ₅₀ > 2500 mg/kg m. c.	Aucune mort, aucun signe clinique de toxicité ou de pathogénécité ni d'infectivité attribuables au traitement. NI TOXIQUE NI PATHOGÈNE
Oiseau, orale de 30 jours	Canard colvert (<i>Anus platyrhynchos</i>), 30 sujets, 2500 mg/kg m. c. (égal à 2,45E+09 CFU/kg m. c.) par jour pendant 5 jours consécutifs	DL ₅₀ > 2500 mg/kg m. c.	Aucune mort, aucun signe clinique de toxicité ou de pathogénécité ni d'infectivité attribuables au traitement. NI TOXIQUE NI PATHOGÈNE
Poisson d'eau douce, de 30 jours (statique, eau remplacée)	Truite arc-en-ciel (<i>Oncorhynchus mykiss</i>), 10/groupe, 5 concentrations (2,5E+04 à 4,0E+05 CFU/mL)	CL ₅₀ * > 7,1E+04 CFU/mL (égal à 12,4 mg/L) CSEO = 5,0E+04 (égal à 8,7 mg/L)	Les signes de toxicité comprennent notamment : quiescence, remontée à la surface, respiration laborieuse, décoloration, perte d'équilibre. Aucun signe d'infection. LÉGÈREMENT TOXIQUE
Arthropodes, de 5 jours (régime alimentaire)	Abeille domestique (<i>Apis mellifera</i>), 2 groupes, 25/groupe, 240, 760 et 2400 mg/L (égal à 2,4E+05, 7,5E+05 et 2,4E+06 CFU/mL)	CL ₅₀ > 2400 mg/L CSEO** = 2400 mg/L	Mortalité dans tous les groupes traités et de témoins, non en fonction de la dose et sans rapport avec le traitement. PRATIQUEMENT NON TOXIQUE
Arthropodes aquatiques, de 21 jours (statique, eau remplacée)	Daphnie d'eau douce (<i>Daphnia magna</i>), 4 groupes, 5/groupe, 10, 100 et 1000 mg/L (égal à 1,0E+04, 1,0E+05 et 1,0E+06 CFU/mL)	CE ₅₀ *** = 190 mg/L (1,9E+05 CFU/mL) SEO**** = 100 mg/L (1,0E+05 CFU/mL) CSEO = 10 mg/L (1,0E+04 CFU/mL)	Aucun effet lié au traitement sur le plan de la reproduction ou sur la durée avant la première ponte. 100 %, 25 % et 0 % de mortalité à 1000, 100 et 10 mg/L, respectivement. 100 % de mortalité pour l'agent inactivé à la chaleur. PRATIQUEMENT NON TOXIQUE

- * CL₅₀ : Concentration létale 50 %
 ** CSEO : Concentration sans effet observable
 *** CE₅₀ : Concentration avec effet 50 %
 **** SEO : Seuil d'effets observables