

II

(Actes non législatifs)

RÈGLEMENTS

RÈGLEMENT (UE) N° 544/2011 DE LA COMMISSION

du 10 juin 2011

portant application du règlement (CE) n° 1107/2009 du Parlement européen et du Conseil en ce qui concerne les exigences en matière de données applicables aux substances actives

(Texte présentant de l'intérêt pour l'EEE)

LA COMMISSION EUROPÉENNE,

vu le traité sur le fonctionnement de l'Union européenne,

vu le règlement (CE) n° 1107/2009 du Parlement européen et du Conseil du 21 octobre 2009 concernant la mise sur le marché des produits phytopharmaceutiques et abrogeant les directives 79/117/CEE et 91/414/CEE du Conseil ⁽¹⁾, et notamment son article 8, paragraphe 4, première phrase,

après consultation du comité permanent de la chaîne alimentaire et de la santé animale,

considérant ce qui suit:

- (1) Conformément au règlement (CE) n° 1107/2009, le dossier à soumettre pour l'approbation d'une substance active ou pour l'autorisation d'un produit phytopharmaceutique doit satisfaire aux mêmes prescriptions en ce qui concerne les exigences en matière de données applicables aux produits phytopharmaceutiques que celles définies dans les dispositions applicables antérieurement, qui sont énoncées aux annexes II et III de la directive

91/414/CEE du Conseil du 15 juillet 1991 concernant la mise sur le marché des produits phytopharmaceutiques ⁽²⁾.

- (2) Il est donc nécessaire, pour l'application du règlement (CE) n° 1107/2009, d'adopter un règlement énonçant lesdites exigences en matière de données applicables aux substances actives, sans modifications substantielles,

A ADOPTÉ LE PRÉSENT RÈGLEMENT:

Article premier

Les exigences en matière de données au respect desquelles est subordonnée l'approbation d'une substance active visées à l'article 8, paragraphe 1, point b), du règlement (CE) n° 1107/2009, sont énoncées à l'annexe du présent règlement.

Article 2

Le présent règlement entre en vigueur le vingtième jour suivant celui de sa publication au *Journal officiel de l'Union européenne*.

Il s'applique à partir du 14 juin 2011.

Le présent règlement est obligatoire dans tous ses éléments et directement applicable dans tout État membre.

Fait à Bruxelles, le 10 juin 2011.

Par la Commission
Le président
José Manuel BARROSO

⁽¹⁾ JO L 309 du 24.11.2009, p. 1.

⁽²⁾ JO L 230 du 19.8.1991, p. 1.

ANNEXE

EXIGENCES EN MATIÈRE DE DONNÉES APPLICABLES AUX SUBSTANCES ACTIVES, CONFORMÉMENT À L'ARTICLE 8, PARAGRAPHE 1, DU RÈGLEMENT (CE) N° 1107/2009

INTRODUCTION

1. Les informations requises doivent:
 - 1.1. comprendre un dossier technique fournissant les informations nécessaires pour l'évaluation des risques prévisibles, immédiats ou à plus long terme, que la substance active peut comporter pour l'homme, les animaux et l'environnement et contenant au moins les résultats des études visées ci-après;
 - 1.2. le cas échéant, être recueillies conformément à la version la plus récente des lignes directrices visées ou décrites dans la présente annexe; pour les études commencées avant l'entrée en vigueur de la modification de la présente annexe, les informations doivent être recueillies conformément à des lignes directrices adéquates, validées à l'échelon national ou international, ou, en leur absence, à des lignes directrices acceptées par l'autorité compétente;
 - 1.3. comprendre, si la ligne directrice ne convient pas ou n'est pas décrite, ou si l'on a utilisé une ligne directrice autre que celles qui sont visées dans la présente annexe, une justification de la ligne directrice utilisée qui soit acceptable pour l'autorité compétente. En particulier lorsqu'il est fait référence dans la présente annexe à une méthode établie dans le règlement (CE) n° 440/2008 de la Commission⁽¹⁾ qui est la transposition d'une méthode mise au point par une organisation internationale (par exemple, l'OCDE), les États membres peuvent accepter que les informations requises soient recueillies conformément à la version la plus récente de cette méthode si, au début des études, la méthode établie selon le règlement (CE) n° 440/2008 n'a pas encore été mise à jour;
 - 1.4. comprendre, si l'autorité compétente l'exige, une description exhaustive des lignes directrices utilisées, à moins qu'il n'y soit fait référence ou qu'elles soient décrites dans la présente annexe, ainsi qu'une description complète de toute variante ainsi que sa justification, acceptable pour l'autorité compétente;
 - 1.5. comprendre un rapport exhaustif et impartial des études menées ainsi que leur description complète ou une justification acceptable pour l'autorité compétente:
 - lorsque certaines données ou informations particulières qui ne semblent pas nécessaires en raison de la nature de la substance ou des utilisations qui en sont proposées ne sont pas fournies, ou
 - s'il n'est pas scientifiquement nécessaire ou techniquement possible de fournir les informations et les données;
 - 1.6. le cas échéant, avoir été recueillies conformément aux dispositions de la directive 86/609/CEE du Conseil⁽²⁾.

2. Essais et analyses

- 2.1. Les essais et analyses doivent être effectués conformément aux principes fixés dans la directive 2004/10/CE du Parlement européen et du Conseil⁽³⁾ lorsqu'ils ont pour but de recueillir des données sur les propriétés intéressant la santé humaine et animale ou l'environnement, et sur la sécurité dans ces domaines.
- 2.2. Par dérogation au point 2.1, les États membres peuvent prévoir que les essais et les analyses effectués sur leur territoire afin de recueillir des données sur les propriétés et/ou la sécurité des substances actives en ce qui concerne les abeilles et les arthropodes utiles autres que les abeilles seront réalisés par des services ou des organismes d'essais officiels ou officiellement reconnus remplissant au minimum les conditions fixées aux points 2.2 et 2.3 de l'introduction de l'annexe du règlement (UE) n° 545/2011 de la Commission⁽⁴⁾.

Cette dérogation s'applique aux essais qui ont effectivement débuté au plus tard le 31 décembre 1999.

- 2.3. Par dérogation au point 2.1, les États membres peuvent prévoir que les essais contrôlés sur les résidus effectués sur leur territoire conformément à la section 6 «Résidus dans ou sur les produits traités, les denrées alimentaires et les aliments pour animaux» sur des produits phytopharmaceutiques contenant les substances actives déjà présents sur le marché deux ans après la notification de la directive 91/414/CEE seront réalisés par des services ou des organismes d'essais officiels ou officiellement reconnus remplissant au minimum les conditions fixées aux points 2.2 et 2.3 de l'introduction de l'annexe du règlement (UE) n° 545/2011.

Cette dérogation s'applique aux essais contrôlés sur les résidus ayant effectivement débuté au plus tard le 31 décembre 1997.

⁽¹⁾ JO L 142 du 31.5.2008, p. 1.

⁽²⁾ JO L 358 du 18.12.1986, p. 1.

⁽³⁾ JO L 50 du 20.2.2004, p. 44.

⁽⁴⁾ Voir p. 67 du présent Journal officiel.

- 2.4. Par dérogation au point 2.1, pour les substances actives constituées de micro-organismes ou de virus, les essais et analyses effectués afin de recueillir des données sur les propriétés et/ou la sécurité en ce qui concerne des aspects autres que la santé humaine peuvent être réalisés par des services ou organismes d'essai officiels ou officiellement reconnus remplissant au minimum les conditions fixées aux points 2.2 et 2.3 de l'introduction de l'annexe du règlement (UE) n° 545/2011.

PARTIE A

SUBSTANCES CHIMIQUES

1. **Identité de la substance active**

Les informations fournies doivent permettre d'identifier chaque substance active avec précision, d'en définir la spécification et d'en caractériser la nature. Ces données et informations sont requises pour toutes les substances actives, sauf indication contraire.

1.1. *Demandeur (nom, adresse, etc.)*

Le nom et l'adresse du demandeur doivent être donnés, tout comme le nom, la qualité, les numéros de téléphone et de télécopieur de la personne de contact.

Lorsque, en outre, le demandeur a un bureau, un agent ou un représentant dans l'État membre auquel la demande d'approbation est présentée et, s'il est différent, dans l'État membre rapporteur nommé par la Commission, indiquer le nom et l'adresse du bureau, de l'agent ou du représentant local, ainsi que le nom, la position, le numéro de téléphone et de télécopieur de la personne de contact.

1.2. *Fabricant (nom, adresse, y compris l'emplacement de l'installation)*

Indiquer le nom et l'adresse du ou des fabricants de la substance active, ainsi que le nom et l'adresse de chaque installation dans laquelle la substance active est fabriquée. Indiquer un point de contact (de préférence central, avec nom, numéros de téléphone et de télécopieur), auquel seront envoyées les informations d'actualisation et où il sera répondu aux questions qui se posent au sujet de la technologie de fabrication, des procédés et de la qualité du produit (y compris, le cas échéant, au sujet des lots individuels). Si l'emplacement de l'installation ou le nombre de fabricants est modifié après l'approbation de la substance active, notifier à nouveau les informations requises à la Commission et aux États membres.

1.3. *Nom commun proposé ou accepté par l'ISO (Organisation de normalisation internationale) et synonymes*

Indiquer le nom commun ISO ou proposé par l'ISO et, le cas échéant, d'autres noms communs proposés ou acceptés (synonymes), y compris le nom (titre) de l'autorité responsable de la nomenclature concernée.

1.4. *Dénomination chimique [nomenclature de l'UICPA (Union internationale de chimie pure et appliquée) et des CA (Chemical Abstracts)]*

Indiquer la dénomination chimique précisée à l'annexe VI du règlement (CE) n° 1272/2008 du Parlement européen et du Conseil⁽¹⁾ ou, si la dénomination ne figure pas dans ce règlement, conformément à la nomenclature de l'UICPA et des CA.

1.5. *Numéro(s) de code développement du fabricant*

Indiquer les numéros de code utilisés pour identifier la substance active et les préparations éventuellement disponibles contenant la substance active, pendant la phase de mise au point. Préciser pour chaque numéro de code indiqué le matériel auquel il se réfère, la période pendant laquelle il a été utilisé et les États membres ou autres pays dans lesquels il a été ou est encore utilisé.

1.6. *Numéro CAS, numéro CE et numéro CIMAC (si disponibles)*

Indiquer le numéro CA, le numéro CE (EINECS ou ELINCS) et le numéro CIMAC, lorsqu'ils existent.

1.7. *Formule moléculaire et formule développée, masse moléculaire*

Indiquer la formule moléculaire, la masse moléculaire et la formule développée de la substance active et, le cas échéant, la formule développée de chaque stéréo-isomère et isomère optique présent dans la substance active.

⁽¹⁾ JO L 353 du 31.12.2008, p. 1.

1.8. *Méthode de fabrication de la substance active (procédé de synthèse)*

Indiquer pour chaque installation la méthode de fabrication, à savoir notamment l'identité des matières de départ, les procédés chimiques utilisés et l'identité des sous-produits et des impuretés présents dans le produit fini. Il n'est généralement pas nécessaire de fournir des informations sur l'ingénierie des procédés.

Lorsque les informations fournies concernent un système de production pilote, les informations requises doivent être à nouveau fournies lorsque les méthodes et procédures de production à l'échelle industrielle se sont stabilisées.

1.9. *Spécification de la pureté de la substance active exprimée en grammes par kilogramme (g/kg)*

Indiquer la teneur minimale, en g/kg de substance active pure (à l'exclusion des isomères inactifs), de la matière manufacturée entrant dans la fabrication des produits préparés.

Lorsque les informations fournies concernent un système de production pilote, les informations requises doivent être à nouveau fournies à la Commission et aux États membres lorsque les méthodes et procédures de production à l'échelle industrielle se sont stabilisées et si les changements intervenus dans la production modifient la spécification de la pureté.

1.10. *Identité des isomères, impuretés et additifs (par exemple des stabilisants), avec la formule développée et la teneur exprimée en g/kg*

Indiquer la teneur maximale en g/kg des isomères inactifs ainsi que le ratio des teneurs en isomères et en diastéréo-isomères, le cas échéant. En outre, indiquer la teneur maximale en g/kg de chaque composant autre que les additifs, y compris les sous-produits et les impuretés. Pour les additifs, indiquer la teneur en g/kg.

Pour chaque composant présent à raison de 1 g/kg ou plus, fournir les informations suivantes, le cas échéant:

- dénomination chimique conformément à la nomenclature de l'UICPA et des CA,
- nom commun ISO ou nom commun proposé, s'il est disponible,
- numéro CAS, numéro CE (Einecs ou Elincs) et numéro CIMAC, s'ils sont disponibles,
- formule moléculaire et formule développée,
- masse moléculaire et
- teneur maximale en g/kg.

Lorsque le procédé de fabrication est tel que des impuretés et des sous-produits particulièrement indésirables en raison de leurs propriétés toxicologiques, écotoxicologiques ou environnementales peuvent être présents dans la substance active, déterminer et indiquer la teneur en chacun de ces composés. Dans ces cas, indiquer les méthodes d'analyse utilisées et les limites de détermination, qui doivent être suffisamment faibles pour chaque composé préoccupant. De plus, fournir les informations suivantes, le cas échéant:

- dénomination chimique conformément à la nomenclature de l'UICPA et des CA,
- nom commun ISO ou nom commun proposé, s'il est disponible,
- numéro CAS, numéro CE (Einecs ou Elincs) et numéro CIMAC, s'ils sont disponibles,
- formule moléculaire et formule développée,
- masse moléculaire et
- teneur maximale en g/kg.

Lorsque l'information fournie concerne un système de production pilote, les informations requises doivent de nouveau être fournies lorsque les méthodes et procédures de production à l'échelle industrielle se sont stabilisées, si les changements intervenus dans la production modifient la spécification de la pureté.

Lorsque les informations fournies ne permettent pas d'identifier pleinement un composant, par exemple des condensats, fournir des informations détaillées sur la composition de chacun de ces composants.

Lorsque des composants sont ajoutés à la substance active, avant la fabrication du produit préparé, pour protéger sa stabilité et faciliter sa manipulation, il y a lieu d'indiquer également leur dénomination commerciale. De plus, fournir les informations suivantes sur ces additifs, le cas échéant:

- dénomination chimique conformément à la nomenclature de l'UICPA et des CA,
- nom commun ISO ou nom commun proposé, s'il est disponible,
- numéro CAS, numéro CE (Eines ou Elincs) et numéro CIMAC, s'ils sont disponibles,
- formule moléculaire et formule développée,
- masse moléculaire et
- teneur maximale en g/kg.

Pour les composants ajoutés, autres que la substance active et que les impuretés résultant du procédé de fabrication, indiquer la fonction du composant (additif):

- agent antimoussant,
- antigel,
- liant,
- stabilisant,
- tampon,
- agent dispersant,
- autres (à préciser).

1.11. Profil analytique des lots

Analyser des échantillons représentatifs de la substance active pour déterminer leur teneur en substance active pure, en isomères inactifs, en impuretés et en additifs, selon le cas. Les résultats d'analyse relatés doivent comprendre des données quantitatives, exprimés en teneur en g/kg, pour tous les composants présents à raison de plus de 1 g/kg; normalement, ils doivent porter sur 98 % au moins du matériel analysé. Déterminer et communiquer la teneur réelle en composants particulièrement indésirables en raison de leurs propriétés toxicologiques, écotoxicologiques ou environnementales. Les données communiquées doivent comprendre les résultats d'analyse d'échantillons individuels ainsi qu'un résumé de ces données destiné à indiquer la teneur minimale ou maximale et caractéristique en chaque composant important, selon le cas.

Lorsqu'une substance active est produite dans plusieurs installations, il convient de fournir ces informations séparément pour chacune des installations.

Par ailleurs, si nécessaire et si possible, des échantillons de la substance active produite en laboratoire ou dans des systèmes pilotes de production doivent être analysés lorsque ces matériels ont servi à fournir des données toxicologiques ou écotoxicologiques.

2. Propriétés physiques et chimiques de la substance active

- i) Les informations fournies doivent décrire les propriétés physiques et chimiques des substances actives; jointes à d'autres informations importantes, elles doivent permettre de les caractériser. En particulier, ces informations doivent permettre:
 - de recenser les dangers physiques, chimiques et techniques liés aux substances actives,
 - de classer les substances actives sur le plan du danger,

- de choisir les restrictions et conditions appropriées à associer à l'approbation de substances et
- de spécifier les mentions de danger et les conseils de prudence appropriés.

Les informations et données visées sont requises pour toutes les substances actives, sauf précision contraire.

- ii) Les informations fournies, associées à celles concernant les préparations importantes, doivent permettre de recenser les dangers physiques, chimiques et techniques liés aux préparations, de classer ces dernières et d'établir que des préparations peuvent être utilisées sans difficulté inutile et sont telles que l'homme, les animaux et l'environnement soient exposés le moins possible, compte tenu du mode d'utilisation.
- iii) Indiquer dans quelle mesure les substances actives dont l'approbation est demandée sont conformes aux normes correspondantes de la FAO (Organisation des Nations unies pour l'alimentation et l'agriculture). Préciser et justifier les divergences par rapport à ces normes.
- iv) Dans des cas précis, les essais doivent être réalisés sur une substance active purifiée répondant à des spécifications données. Dans ces cas, il y a lieu d'indiquer les principes de la ou des méthodes de purification. Indiquer le degré de pureté de cette matière d'essai, qui doit être aussi élevé que le permet la meilleure technologie disponible. Fournir une justification motivée dans les cas où le degré de pureté atteint est inférieur à 980 g/kg.

Cette justification doit démontrer que toutes les possibilités techniquement réalisables et acceptables de production de la substance active pure ont été envisagées.

2.1. *Point de fusion et point d'ébullition*

- 2.1.1. Déterminer et indiquer le point de fusion ou, le cas échéant, le point de congélation ou de solidification de la substance active purifiée, conformément à la méthode A 1 du règlement (CE) n° 440/2008. Les mesures doivent être effectuées jusqu'à 360 °C.
- 2.1.2. Pour les substances actives qui sont liquides, déterminer et indiquer, le cas échéant, le point d'ébullition de ces substances, conformément à la méthode A 2 du règlement (CE) n° 440/2008. Les mesures doivent être effectuées jusqu'à 360 °C.
- 2.1.3. Lorsque le point de fusion et/ou le point d'ébullition ne peuvent pas être déterminés pour des raisons de décomposition ou de sublimation, indiquer la température à laquelle se produit la décomposition ou la sublimation.

2.2. *Densité relative*

Pour les substances actives liquides ou solides, déterminer et indiquer la densité relative de la substance active purifiée conformément à la méthode A 3 du règlement (CE) n° 440/2008.

2.3. *Pression de vapeur (en Pa), volatilité (par exemple constante de la loi de Henry)*

- 2.3.1. Indiquer la pression de vapeur de la substance active purifiée, selon la méthode A 4 du règlement (CE) n° 440/2008. Lorsque cette pression est inférieure à 10^{-5} Pa, la pression de vapeur à 20 ou à 25 °C peut être estimée par une courbe de pression de vapeur.
- 2.3.2. Pour les substances actives solides ou liquides, déterminer la volatilité (constante de la loi de Henry) de la substance active purifiée, ou la calculer à partir de sa solubilité dans l'eau et de la pression de vapeur, et l'indiquer (en $\text{Pa} \times \text{m}^3 \times \text{mol}^{-1}$).

2.4. *Aspect (état physique, couleur et odeur, s'ils sont connus)*

- 2.4.1. Donner une description de la couleur, le cas échéant, et de l'état physique de la substance active manufacturée et de la substance active purifiée.
- 2.4.2. Donner une description de toute odeur associée à la substance active manufacturée et à la substance active purifiée, constatée lors de la manipulation des matières en laboratoire ou dans les installations de production.

2.5. *Spectres (ultraviolet/visible — UV/VIS —, infrarouge — IR —, résonance magnétique nucléaire — RMN —, spectrométrie de masse — SM), extinction moléculaire aux longueurs d'onde adéquates*

- 2.5.1. Déterminer et indiquer les spectres suivants, avec un tableau des caractéristiques du signal nécessaires à l'interprétation: ultraviolet/visible (UV/VIS), infrarouge (IR), résonance magnétique nucléaire (RMN) et spectrométrie de masse (SM) de la substance active purifiée, ainsi que l'extinction moléculaire aux longueurs d'onde adéquates.

Déterminer et indiquer les longueurs d'onde auxquelles l'extinction moléculaire a lieu dans le spectre UV/visible; si nécessaire, y inclure une longueur d'onde à la plus haute valeur d'absorption au-dessus de 290 nm.

Pour les substances actives qui sont le produit d'un dédoublement en isomères optiques, mesurer et indiquer leur pureté optique.

- 2.5.2. Déterminer et indiquer les spectres d'absorption UV/visible, IR, RMN et SM s'ils sont nécessaires pour l'identification de toutes les impuretés considérées comme importantes sur le plan toxicologique, écotoxicologique ou environnemental.

2.6. *Solubilité dans l'eau, notamment influence du pH (4 à 10) sur la solubilité*

Déterminer et indiquer, conformément à la méthode A 6 du règlement (CE) n° 440/2008, l'hydrosolubilité des substances actives purifiées à la pression atmosphérique. Effectuer ces déterminations dans la plage neutre (c'est-à-dire dans de l'eau distillée en équilibre avec le dioxyde de carbone atmosphérique). Lorsque la substance active a la capacité de former des ions, effectuer les déterminations dans la plage acide (pH 4 à 6) et dans la plage alcaline (pH 8 à 10). Lorsque la stabilité de la substance active dans les milieux aqueux ne permet pas de déterminer l'hydrosolubilité, fournir une justification reposant sur les données d'essai.

2.7. *Solubilité dans les solvants organiques*

Déterminer et indiquer la solubilité des substances actives fabriquées dans les solvants organiques suivants, à une température de 15 à 25 °C, si elle est inférieure à 250 g/kg; préciser la température appliquée:

- hydrocarbure aliphatique: de préférence n-heptane,
- hydrocarbure aromatique: de préférence xylène,
- hydrocarbure halogéné: de préférence 1,2-dichloro-éthane,
- alcool: de préférence méthanol ou alcool isopropylique,
- cétone: de préférence acétone,
- ester: de préférence acétate d'éthyle.

Si un ou plusieurs de ces solvants ne convient pas à une substance active donnée (par exemple s'il réagit avec la substance soumise aux essais), ils peuvent être remplacés par d'autres solvants. Dans ce cas, justifier les choix effectués au niveau de la structure et de la polarité des solvants.

2.8. *Coefficient de partage n-octanol/eau, notamment influence du pH (4 à 10)*

Déterminer le coefficient de partage n-octanol/eau de la substance active purifiée et l'indiquer conformément à la méthode A 8 du règlement (CE) n° 440/2008. Analyser l'influence du pH (4 à 10) lorsque la substance est acide ou basique selon sa valeur pKa (< 12 pour les acides, > 2 pour les bases).

2.9. *Stabilité dans l'eau, taux d'hydrolyse, dégradation photochimique, rendement quantique et identité du ou des produits de dégradation, constante de dissociation, notamment influence du pH (4 à 9)*

- 2.9.1. Déterminer le taux d'hydrolyse des substances actives purifiées (généralement substance active marquée, d'une pureté > 95 %), pour chacune des valeurs du pH 4, 7 et 9, en atmosphère stérile et en l'absence de lumière, et l'indiquer conformément à la méthode C 7 du règlement (CE) n° 440/2008. Pour les substances ayant un faible taux d'hydrolyse, ce taux peut être déterminé à 50 °C ou à une autre température appropriée.

Si une dégradation se produit à 50 °C, déterminer le taux de dégradation à une autre température et tracer un graphique d'Arrhenius pour permettre d'estimer l'hydrolyse à 20 °C. Indiquer l'identité des produits d'hydrolyse et la constante de vitesse observée. Indiquer aussi la valeur DT₅₀ estimée.

2.9.2. Pour les composés ayant un coefficient d'absorption molaire (décadique) (ϵ) > 10 ($L \times mol^{-1} \times cm^{-1}$) à une longueur d'onde $\lambda \geq 290$ nm, déterminer et indiquer la phototransformation directe dans l'eau purifiée (par exemple distillée), à une température comprise entre 20 et 25 °C, d'une substance active purifiée généralement radiomarquée à la lumière artificielle et en atmosphère stérile, si nécessaire en utilisant un agent de solubilisation. Ne pas utiliser de sensibilisants tels que l'acétone comme co-solvant ou comme agent de solubilisation. La source de lumière doit simuler la lumière du soleil et être équipée de filtres qui excluent les radiations à des longueurs d'onde $\lambda < 290$ nm. Indiquer l'identité des produits de dégradation qui sont présents à tout moment pendant la réalisation de l'étude dans des quantités ≥ 10 % de la substance active ajoutée, fournir un bilan massique permettant de tenir compte de 90 % au moins de la radioactivité appliquée et indiquer la demi-vie photochimique.

2.9.3. Si cela est nécessaire pour étudier la phototransformation directe, déterminer et indiquer le rendement quantique de la photodégradation directe dans l'eau, et joindre les calculs permettant d'estimer la durée de vie théorique de la substance active dans la couche supérieure des systèmes aqueux et la durée de vie réelle de la substance.

La méthode est décrite dans les directives modifiées de la FAO relatives aux critères écotoxicologiques d'homologation des pesticides ⁽¹⁾.

2.9.4. Lorsqu'une dissociation dans l'eau se produit, déterminer et indiquer conformément à la ligne directrice n° 112 de l'Organisation de coopération et de développement économiques (OCDE) la ou les constantes de dissociation (valeurs de pKa) des substances actives purifiées. Indiquer l'identité des produits de dissociation à partir de considérations théoriques. Si la substance active est un sel, indiquer la valeur pKa du principe actif.

2.10. *Stabilité dans l'air, dégradation photochimique, identité du ou des produits de dégradation*

Présenter une estimation de la dégradation photochimique oxydative (autotransformation indirecte) de la substance active.

2.11. *Inflammabilité, y compris auto-inflammabilité*

2.11.1. Déterminer l'inflammabilité des substances actives fabriquées qui sont solides, gazeuses ou qui dégagent des gaz très inflammables, et l'indiquer conformément aux méthodes A 10, A 11 ou A 12 du règlement (CE) n° 440/2008, selon le cas.

2.11.2. Déterminer l'auto-inflammabilité des substances actives manufacturées et l'indiquer conformément aux méthodes A 15 ou A 16 du règlement (CE) n° 440/2008, selon le cas et/ou, si nécessaire, conformément à l'essai en cage de Bowes-Cameron des Nations unies (Recommandations des Nations unies sur le transport des marchandises dangereuses, chapitre 14, n° 14.3.4).

2.12. *Point d'éclair*

Déterminer le point d'éclair des substances actives manufacturées ayant un point de fusion inférieur à 40 °C et l'indiquer conformément à la méthode A 9 du règlement (CE) n° 440/2008; il convient de n'utiliser que des méthodes en vase clos.

2.13. *Propriétés explosives*

Si nécessaire, déterminer et indiquer conformément à la méthode A 14 du règlement (CE) n° 440/2008 les propriétés explosives des substances actives manufacturées.

2.14. *Tension superficielle*

Déterminer et indiquer la tension superficielle conformément à la méthode A 5 du règlement (CE) n° 440/2008.

2.15. *Propriétés oxydantes*

Déterminer les propriétés oxydantes des substances actives manufacturées et les indiquer conformément à la méthode A 17 du règlement (CE) n° 440/2008, sauf lorsque l'examen de leur formule développée permet d'établir, en ne laissant place à aucun doute raisonnable, qu'aucune réaction exothermique n'est possible entre la substance active considérée et une matière combustible. Dans ces cas, il suffit de fournir ces informations pour justifier la non-détermination des propriétés oxydantes de la substance active.

⁽¹⁾ Organisation des Nations unies pour l'alimentation et l'agriculture, Rome, décembre 1989. <http://www.fao.org/ag/AGP/AGPP/Pesticid/Code/Download/ENVICRI.pdf>.

3. **Autres informations sur la substance active**

- i) Les informations fournies doivent indiquer à quelles fins il est envisagé d'utiliser les préparations contenant la substance active ou à quelles fins elles vont l'être, et préciser quels seront la dose appliquée et le mode d'utilisation prévus ou proposés.
- ii) Les informations fournies doivent préciser les méthodes et précautions normales à suivre dans la manutention, le stockage et le transport de la substance active.
- iii) Les études, données et informations présentées ainsi que d'autres études, données et informations pertinentes doivent préciser et justifier les méthodes et précautions à suivre en cas d'incendie. Il convient de prévoir les produits de combustion susceptibles de se former en cas d'incendie en fonction de la structure chimique et des propriétés physiques et chimiques de la substance active.
- iv) Les études, données et informations présentées ainsi que d'autres études, données et informations pertinentes doivent démontrer que les mesures proposées conviennent dans des situations d'urgence.
- v) Les informations et données visées sont requises pour toutes les substances actives, sauf indication contraire.

3.1. *Fonction, par exemple fongicide, herbicide, insecticide, répulsif, régulateur de croissance*

La fonction doit être précisée parmi les fonctions suivantes:

- acaricide,
- bactéricide,
- fongicide,
- herbicide,
- insecticide,
- molluscicide,
- nématocide,
- régulateur de croissance végétale,
- répulsif,
- rodenticide,
- médiateur chimique,
- taupicide,
- virucide,
- autres (à préciser).

3.2. *Effets sur les organismes nuisibles, par exemple poison par contact, par inhalation, poison stomacal, fongitoxique, etc., systémique ou non chez les végétaux*

3.2.1. Indiquer la nature des effets sur les organismes nuisibles:

- action par contact,
- action par ingestion,
- action par inhalation,
- action fongitoxique,
- action fongistatique,

- déshydratant,
 - inhibiteur de la reproduction,
 - autres (à préciser).
- 3.2.2. Indiquer si la substance active subit une translocation dans les végétaux et, le cas échéant, si cette translocation est apoplastique, symplastique ou les deux.
- 3.3. *Domaine d'utilisation, par exemple champ, serre, stockage de produits végétaux, jardin domestique*
Préciser le ou les domaines d'utilisation actuels et proposés des préparations contenant la substance active parmi ceux qui figurent dans la liste ci-après:
- utilisation au champ (agriculture, horticulture, sylviculture, viticulture, etc.)
 - cultures protégées (serre),
 - jardins publics,
 - désherbage des terres non cultivées,
 - jardins domestiques,
 - plantes d'intérieur,
 - stockage de produits végétaux,
 - autres (à préciser).
- 3.4. *Organismes nuisibles combattus et cultures et produits protégés ou traités*
- 3.4.1. Préciser l'utilisation actuelle et envisagée en termes de cultures, groupes de cultures, végétaux ou produits végétaux traités et, le cas échéant, protégés.
- 3.4.2. Le cas échéant, spécifier les organismes nuisibles contre lesquels une protection est assurée.
- 3.4.3. Le cas échéant, indiquer les effets obtenus, par exemple inhibition de la germination, retardement de la maturation, inhibition de la croissance de la tige, amélioration de la fertilité, etc.
- 3.5. *Mode d'action*
- 3.5.1. Dans la mesure où il a été mis en évidence, indiquer le mode d'action de la substance active au niveau, le cas échéant, du ou des mécanismes biochimiques et physiologiques ainsi que de la ou des voies biochimiques. S'ils sont disponibles, indiquer les résultats des études expérimentales en la matière.
- 3.5.2. Lorsqu'il est acquis que, pour exercer l'effet recherché, la substance active doit être transformée en métabolite ou en produit de dégradation après application ou utilisation des préparations qui la contiennent, les informations suivantes doivent être fournies, à partir des informations présentées au titre des points 5.6, 5.11, 6.1, 6.2, 6.7, 7.1, 7.2 et 9, auxquels elles renverront, au sujet de l'éventuel métabolite ou produit de dégradation actif:
- dénomination chimique conformément à la nomenclature de l'UICPA et des CA,
 - nom commun ISO ou nom commun proposé,
 - numéro CAS, numéro CE (EINECS et ELINCS) et numéro CIMAC, s'il est disponible,
 - formule empirique et formule développée et
 - masse moléculaire.

- 3.5.3. Fournir les informations disponibles sur la formation des métabolites et produits de dégradation actifs, notamment:
- les procédés, mécanismes et réactions en cause,
 - les données cinétiques et autres données concernant la vitesse de conversion et, si elle est connue, l'étape cinétiquement déterminante,
 - les facteurs environnementaux et ceux ayant une incidence sur la vitesse et l'importance de la conversion.
- 3.6. *Informations concernant la possibilité de l'apparition d'une résistance et stratégies de réponse*
Lorsqu'il en existe, fournir des informations sur la possibilité de l'apparition d'une résistance ou d'une résistance croisée.
- 3.7. *Méthodes et précautions recommandées en matière de manutention, de stockage, de transport ou en cas d'incendie*
Fournir la fiche de données de sécurité visée à l'article 31 du règlement (CE) n° 1907/2006 du Parlement européen et du Conseil ⁽¹⁾ pour toutes les substances actives.
- 3.8. *Procédures de destruction ou de décontamination*
- 3.8.1. *Incinération contrôlée*
Dans de nombreux cas, le meilleur ou l'unique moyen d'éliminer en toute sécurité des substances actives, des matériels ou des emballages contaminés est de les soumettre à une incinération contrôlée dans un incinérateur agréé.
- Lorsque la teneur en halogènes de la substance active est supérieure à 60 %, indiquer le comportement pyrolytique de la substance active dans des conditions contrôlées (y compris, le cas échéant, l'apport précis en oxygène et le temps de séjour fixé) à 800 °C et la teneur en dibenzo-p-dioxines et en dibenzo-furanes polyhalogénés dans les produits de pyrolyse. Le demandeur doit fournir des instructions détaillées sur la sécurité d'élimination.
- 3.8.2. *Divers*
Décrire en détail les autres méthodes d'élimination de la substance active, d'emballages contaminés et de matières contaminées, s'il en est proposé. Fournir des données sur ces méthodes permettant d'établir leur efficacité et leur sécurité.
- 3.9. *Mesures d'urgence en cas d'accident*
Indiquer les procédures de décontamination de l'eau, en cas d'accident.

4. **Méthodes d'analyse**

Introduction

Les dispositions de la présente section s'appliquent exclusivement aux méthodes d'analyse requises pour le contrôle et la surveillance postérieurs à l'enregistrement.

Pour les méthodes d'analyse utilisées pour la production des données requises par le présent règlement ou à d'autres fins, le demandeur est tenu de fournir une justification de la méthode utilisée; si nécessaire, des directives spécifiques seront élaborées pour ces méthodes sur la base des mêmes normes que celles requises pour les méthodes de contrôle et de suivi postérieurs à l'autorisation.

Une description des méthodes d'analyse contenant toutes les données utiles relatives à l'équipement, au matériel ainsi qu'aux conditions d'application doit être fournie.

Ces méthodes doivent être aussi simples que possible, peu onéreuses et faire appel à des équipements courants.

⁽¹⁾ JO L 396 du 30.12.2006, p. 1.

Les définitions mentionnées ci-après s'appliquent aux fins de la présente section.

Impuretés, métabolites, métabolites pertinents	telles que définies dans le règlement (CE) n° 1107/2009.
Impuretés pertinentes	impuretés préoccupantes sur le plan toxicologique et/ou écotoxicologique ou environnemental,
Impuretés significatives	impuretés représentant une quantité dans la substance active technique égale ou supérieure à 1 g/kg.

Les échantillons suivants doivent être fournis sur demande:

- i) des étalons pour l'analyse de la substance active pure;
- ii) des échantillons de la substance active technique;
- iii) des étalons pour l'analyse des métabolites pertinents et de tous les autres composants compris dans la définition de résidu;
- iv) s'ils sont disponibles, des échantillons des substances de référence pour les impuretés pertinentes.

4.1. Méthodes d'analyse de la substance active technique

Les définitions ci-après sont applicables à la présente section.

i) Spécificité

La spécificité est la capacité d'une méthode de discerner la substance recherchée à mesurer des autres substances.

ii) Linéarité

La linéarité est la capacité de la méthode, dans une plage donnée, de fournir une corrélation linéaire acceptable entre les résultats et la concentration de la substance recherchée dans des échantillons.

iii) Exactitude

L'exactitude est la mesure dans laquelle la valeur obtenue pour la substance recherchée dans un échantillon correspond à la valeur de référence reconnue (voir, par exemple, la norme ISO 5725).

iv) Précision

La précision est le degré de concordance entre des résultats d'essais indépendants obtenus dans des conditions déterminées.

La répétabilité est la précision obtenue dans des conditions répétables, c'est-à-dire des conditions dans lesquelles les résultats d'essais indépendants sont obtenus par l'application d'une même méthode à un matériel d'essai identique, dans un même laboratoire et par un même opérateur utilisant un même équipement à de brefs intervalles de temps.

La reproductibilité n'est pas requise pour la substance active technique (pour la définition de la reproductibilité, voir la norme ISO 5725).

- 4.1.1. Il y a lieu de présenter, et de décrire de manière exhaustive, les méthodes qui permettent de doser la substance active pure présente dans la substance active technique conformément au dossier présenté aux fins d'approbation. L'applicabilité des méthodes actuelles de la CIMAP doit être signalée.
- 4.1.2. Il convient également de présenter des méthodes qui permettent de doser, dans la substance active technique, les impuretés et les additifs (les stabilisants, par exemple) significatifs et/ou pertinents.
- 4.1.3. Spécificité, linéarité, exactitude et répétabilité
 - 4.1.3.1. La spécificité des méthodes présentées doit être démontrée et consignée. Il y a lieu, en outre, de déterminer l'ampleur de l'interférence des autres substances (isomères, impuretés, additifs) présentes dans la substance active technique.

Les interférences d'autres composants peuvent être considérées comme des erreurs systématiques dans l'évaluation de l'exactitude des méthodes proposées pour le dosage de la substance active pure dans la substance active technique; néanmoins, une explication doit être donnée pour toute interférence contribuant pour plus de $\pm 3\%$ à la quantité totale dosée. Le degré d'interférence doit être déterminé également pour les méthodes de détermination des impuretés.

- 4.1.3.2. La linéarité des méthodes proposées dans une plage appropriée doit être déterminée et consignée. Pour le dosage de la substance pure, la plage d'étalonnage doit dépasser (d'au moins 20 %) la teneur nominale la plus élevée et la plus basse de la substance recherchée dans les solutions à analyser en cause. Pour l'étalonnage, il y a lieu d'effectuer une double mesure d'au moins trois concentrations différentes ou une mesure simple de cinq concentrations. Les procès-verbaux doivent contenir l'équation de la courbe d'étalonnage et le coefficient de corrélation ainsi que des documents, relatifs à l'analyse, représentatifs et dûment étiquetés, par exemple des chromatogrammes.
- 4.1.3.3. Le critère d'exactitude est requis pour le dosage de la substance pure et des impuretés significatives et/ou pertinentes dans la substance active technique.
- 4.1.3.4. Au moins cinq dosages sont normalement requis pour assurer la répétabilité du dosage de la substance active pure. L'écart type relatif (% ETR) doit être mentionné. Les valeurs aberrantes détectées par une méthode appropriée (les tests de Dixon ou de Grubbs, par exemple) peuvent être négligées, mais leur écart doit toujours être signalé et leur apparition doit faire l'objet d'une tentative d'explication.

4.2. Méthodes de détection des résidus

Ces méthodes doivent permettre de détecter la substance active et/ou les métabolites pertinents. Pour chaque méthode et pour chaque matrice représentative pertinente, il y a lieu de déterminer expérimentalement et de consigner la spécificité, la précision, la possibilité de récupération et la limite de détermination.

En principe, les méthodes proposées doivent permettre la détection de résidus multiples; une méthode multi-résidus standard doit faire l'objet d'une évaluation et d'un rapport pour voir si elle convient. Lorsque ces méthodes ne sont pas des méthodes multirésidus ou sont incompatibles avec celles-ci, une méthode de remplacement doit être proposée. Si cette exigence aboutit à la proposition d'un nombre de méthodes excessif pour des composés particuliers une «méthode relative à la partie commun» peut être acceptable.

Les définitions ci-après sont applicables à la présente section.

i) Spécificité

La spécificité est la capacité d'une méthode de discerner la substance recherchée à mesurer des autres substances.

ii) Précision

La précision est le degré de concordance des résultats d'essais indépendants obtenus dans des conditions déterminées.

La répétabilité: est la précision obtenue dans des conditions répétables, c'est-à-dire des conditions dans lesquelles les résultats d'essais indépendants sont obtenus par l'application d'une même méthode à un matériel d'essai identique, dans un même laboratoire et par un même opérateur utilisant un même équipement à de brefs intervalles de temps.

Reproductibilité: étant donné que la définition de la reproductibilité dans les publications pertinentes (par exemple dans la norme ISO 5725) n'est généralement pas praticable pour des méthodes d'analyse de résidus, la reproductibilité dans le contexte du présent règlement se définit comme une validation de la répétabilité de la récupération de matrices représentatives et à des niveaux de concentration représentatifs par au moins un laboratoire indépendant de celui qui a initialement validé l'étude (ce laboratoire indépendant peut être dans la même firme) (validation de laboratoires indépendants).

iii) Récupération

Pourcentage de la quantité de substance active ou de métabolite pertinent ajouté initialement à un échantillon de la matrice appropriée, qui ne contient aucun niveau détectable de la substance recherchée.

iv) Limite de détermination

La limite de détermination (souvent appelée limite de quantification) est la plus faible concentration testée à laquelle on obtient une récupération moyenne acceptable (normalement 70 à 110 % avec un écart type relatif de préférence ≤ 20 %; dans certains cas justifiés, des taux moyens de récupération inférieurs ou supérieurs ainsi que des écarts types relatifs supérieurs peuvent être acceptables).

4.2.1. Résidus dans et/ou sur des végétaux, produits végétaux, denrées alimentaires (d'origine végétale et animale), aliments pour animaux

Les méthodes proposées doivent convenir pour le dosage de tous les composants compris dans la définition du résidu proposée conformément aux points 6.1 et 6.2 en vue de permettre aux États membres de déterminer la conformité avec les limites maximales de résidus existantes ou de doser les résidus délogeables.

La spécificité des méthodes doit permettre le dosage de tous les composants compris dans la définition du résidu; une méthode supplémentaire doit être appliquée si une confirmation se révèle nécessaire.

La répétabilité doit être déterminée et consignée. Les échantillons d'essai d'analyse identiques peuvent, autant que possible, être préparés à partir d'un même échantillon traité au champ et contenant les résidus retrouvés. Les échantillons d'essai peuvent aussi être préparés à partir d'un échantillon commun non traité dont des fractions aliquotes auront été supplémentées au(x) dosage(x) requis.

Les résultats de la validation par un laboratoire indépendant doivent être relatés.

La limite de détermination ainsi que la récupération individuelle et moyenne doivent être déterminées et consignées. L'écart type relatif global ainsi que l'écart type relatif doivent être déterminés expérimentalement et mentionnés pour chaque niveau de supplémentation.

4.2.2. Résidus présents dans le sol

Il y a lieu de proposer des méthodes d'analyse du sol permettant de déterminer le précurseur et/ou les métabolites pertinents.

La spécificité des méthodes doit permettre la détermination du précurseur et/ou des métabolites pertinents; une méthode supplémentaire doit être appliquée si une confirmation se révèle nécessaire.

La répétabilité, la récupération et la limite de détermination, y compris la récupération individuelle et la récupération moyenne, doivent être déterminées et consignées. L'écart type relatif global ainsi que l'écart type relatif doivent être déterminés expérimentalement et consignés pour chaque niveau de supplémentation.

La limite de détermination proposée ne doit pas dépasser une concentration préoccupante au regard de l'exposition des organismes non ciblés ou en raison des effets phytotoxiques. Normalement la limite de détermination proposée ne peut dépasser 0,05 mg/kg.

4.2.3. Résidus présents dans l'eau (y compris les eaux potables, souterraines et de surface)

Il y a lieu de proposer des méthodes d'analyse des eaux permettant de déterminer le précurseur et/ou les métabolites pertinents.

La spécificité des méthodes doit permettre la détermination du précurseur et/ou des métabolites pertinents; une méthode supplémentaire doit être appliquée si une confirmation se révèle nécessaire.

La répétabilité, la récupération et la limite de détermination, y compris la récupération individuelle et la récupération moyenne, doivent être déterminées et consignées. L'écart type relatif global ainsi que l'écart type relatif doivent être déterminés expérimentalement et consignés pour chaque niveau de supplémentation.

Pour l'eau potable, la limite de détermination proposée ne peut dépasser 0,1 µg/l. Pour les eaux de surface, elle ne peut dépasser la concentration ayant une incidence inacceptable sur les organismes non ciblés conformément aux exigences de l'annexe du règlement (UE) n° 546/2011 de la Commission⁽¹⁾.

⁽¹⁾ Voir p. 127 du présent Journal officiel.

4.2.4. Résidus présents dans l'air

Il y a lieu de proposer des méthodes de détermination de la substance active et/ou des métabolites pertinents présents dans l'air pendant ou peu de temps après l'application sauf s'il peut être démontré que l'exposition des opérateurs, des travailleurs ou des autres personnes présentes sur les lieux est peu probable.

La spécificité des méthodes doit permettre la détermination du précurseur et/ou des métabolites pertinents; une méthode supplémentaire doit être appliquée si une confirmation se révèle nécessaire.

La répétabilité, la récupération et la limite de détermination, y compris la récupération individuelle et la récupération moyenne, doivent être déterminées et consignées. L'écart type relatif global ainsi que l'écart type relatif doivent être déterminés expérimentalement et consignés pour chaque niveau de supplémentation.

La limite de détermination proposée doit tenir compte de valeurs limites pertinentes pour la santé ou de degrés d'exposition caractéristiques.

4.2.5. Résidus présents dans les liquides et tissus organiques

Il y a lieu de proposer des méthodes d'analyse appropriées lorsqu'une substance active est classée comme toxique ou hautement toxique.

La spécificité des méthodes doit permettre la détermination du précurseur et/ou des métabolites pertinents; une méthode supplémentaire doit être appliquée si une confirmation se révèle nécessaire.

La répétabilité, la récupération et la limite de détermination, y compris la récupération individuelle et la récupération moyenne, doivent être déterminées et consignées. L'écart type relatif global ainsi que l'écart type relatif doivent être déterminés expérimentalement et consignés pour chaque niveau de supplémentation.

5. Études toxicologiques et du métabolisme

Introduction

i) Les informations fournies, jointes à celles concernant une ou plusieurs préparations contenant la substance active, doivent être suffisantes pour permettre une évaluation des risques pour l'homme découlant de la manutention et de l'utilisation de produits phytopharmaceutiques contenant la substance active, et du risque pour l'homme dû aux traces de résidus contenues dans les aliments et l'eau. En outre, les informations fournies doivent être suffisantes pour:

- permettre une décision quant à l'approbation éventuelle de la substance active,
- fixer les conditions ou restrictions appropriées liées à toute approbation,
- classer la substance active en fonction du danger,
- fixer une dose journalière acceptable (DJA) pertinente pour l'homme,
- fixer des niveaux acceptables d'exposition de l'opérateur (NAEO),
- fixer les pictogrammes, les mentions d'avertissements et les mentions de danger et conseils de prudence appropriés pour la protection de l'homme, des animaux et de l'environnement à faire figurer sur l'emballage (récipients),
- définir les mesures de premiers soins adéquates ainsi que les mesures appropriées concernant le diagnostic et les traitements thérapeutiques en cas d'empoisonnement chez l'homme et
- permettre une évaluation concernant la nature et l'ampleur des risques pour l'homme, les animaux (espèces normalement nourries et élevées ou consommées par l'homme) et des risques pour d'autres espèces de vertébrés non ciblées.

ii) Il est nécessaire d'examiner et de relater tous les effets nocifs possibles découverts au cours des études toxicologiques de routine (y compris les effets sur les organes et certains systèmes décelés par les études d'immunotoxicité et de neurotoxicité) et d'entreprendre et de relater les études complémentaires éventuellement nécessaires pour analyser le mécanisme probable en cause, de fixer des doses sans effet nocif observé (DSENO), et d'apprécier l'importance de ces effets. Toutes les données biologiques et informations disponibles pertinentes pour l'évaluation du profil toxicologique de la substance soumise aux essais doivent être relatées.

- iii) Compte tenu de l'influence que peuvent avoir les impuretés sur le comportement toxicologique, il est essentiel que soit fournie, pour toute étude proposée, une description détaillée (spécification) du matériel utilisé, mentionné à la partie A, point 1.11. Les essais doivent être effectués avec la substance active de ladite spécification, qui sera utilisée pour la fabrication des préparations à autoriser, sauf si une substance radiomarquée est exigée ou autorisée.
- iv) Si des études sont effectuées avec une substance active produite dans le laboratoire ou dans un système de production pilote, les études doivent être répétées avec la substance active technique, sauf s'il peut être prouvé que la substance d'essai utilisée est fondamentalement la même aux fins des essais et de l'évaluation de la toxicité. En cas d'incertitude, des études de recoupement appropriées doivent être présentées pour qu'il soit possible d'arrêter une décision quant à l'éventuelle nécessité de répéter les études.
- v) Dans le cas d'études dans lesquelles le dosage s'étend sur une période donnée, celui-ci doit être réalisé de préférence avec un seul lot de substance active, si la stabilité le permet.
- vi) Pour toutes les études, la dose réelle employée, exprimée en milligrammes par kilogramme (mg/kg) de poids corporel, ainsi que dans d'autres unités appropriées, doit être relatée. Si la dose est intégrée dans l'alimentation, le composé soumis aux essais doit être distribué uniformément dans la ration.
- vii) Si, par suite du métabolisme ou d'autres processus se produisant dans ou sur les végétaux traités, ou par suite de la transformation de produits traités, le résidu final [auquel les consommateurs ou des travailleurs visés à l'annexe du règlement (UE) n° 545/2011, partie A, point 7.2.3, sont exposés] contient une substance qui n'est pas la substance active proprement dite et qui n'est pas considérée comme un métabolite chez les mammifères, il est nécessaire d'effectuer des études de toxicité sur ces composants du résidu final sauf s'il peut être démontré que l'exposition du consommateur ou du travailleur à ces substances ne présente pas un risque important pour la santé. Des études de toxicocinétique et du métabolisme se rapportant aux métabolites et aux produits cataboliques ne doivent être effectuées que si la toxicité du métabolite ne peut pas être déduite des résultats disponibles se rapportant à la substance active.
- viii) Le mode d'administration de la substance d'essai dépend des principales voies d'exposition. Si l'exposition est essentiellement due à une substance en phase gazeuse, il peut être préférable de réaliser des études sur l'exposition par inhalation plutôt que par voie orale.

5.1. *Études de l'absorption, de la distribution, de l'excrétion et du métabolisme chez les mammifères*

Il est possible que les seules données requises à cet effet soient des données très limitées, décrites ci-dessous, et portant sur une seule espèce (normalement le rat). Ces données peuvent fournir des informations utiles pour la conception et l'interprétation des essais de toxicité ultérieurs. Cependant, il convient de se rappeler que les informations relatives aux différences entre les espèces peuvent être déterminantes pour l'extrapolation à l'homme des données relatives à l'animal, et les informations sur la pénétration transcutanée, l'absorption, la distribution, l'excrétion et le métabolisme devraient être utiles pour l'évaluation du risque pour l'opérateur. Il est impossible de préciser les exigences détaillées concernant les informations dans tous les domaines étant donné que les exigences précises dépendent des résultats obtenus pour chaque substance d'essai particulière.

Objet des essais

Les essais doivent fournir des données suffisantes pour permettre:

- une évaluation du taux et de l'importance de l'absorption,
- une évaluation de la distribution dans les tissus et du taux ainsi que de l'importance de l'excrétion de la substance soumise aux essais et des métabolites pertinents,
- l'identification des métabolites et du schéma métabolique.

Il convient aussi de rechercher l'effet de la dose sur ces paramètres et de déterminer si les résultats sont différents après l'administration d'une dose unique ou de doses répétées.

Situations dans lesquelles les essais sont requis

Une étude toxicocinétique à dose unique sur des rats (voie d'administration orale) pour au moins deux concentrations ainsi qu'une étude toxicocinétique à doses répétées, à une seule concentration, sur des rats (voie d'administration orale) doivent être réalisées et relatées. Il peut être nécessaire, dans certains cas, de procéder à des études complémentaires sur une autre espèce (par exemple la chèvre ou le poulet).

Ligne directrice des essais

Règlement (CE) n° 440/2008, méthode B 36, toxicocinétique.

5.2. *Toxicité aiguë*

Les études, données et informations à fournir et à évaluer doivent être suffisantes pour permettre de déceler les effets d'une exposition unique à la substance active et en particulier d'établir ou d'indiquer:

- la toxicité de la substance active,
- l'évolution au cours du temps et les caractéristiques des effets avec des détails exhaustifs sur les modifications comportementales et les éventuelles constatations macropathologiques à l'inspection post mortem,
- si possible, le mode d'action toxique et
- le danger relatif lié aux diverses voies d'exposition.

Si l'accent doit être mis sur l'estimation des degrés de toxicité en cause, les informations obtenues doivent aussi permettre de classer la substance active conformément au règlement (CE) n° 1272/2008. Les informations obtenues grâce à un essai de toxicité aiguë revêtent une importance particulière pour l'évaluation des dangers potentiels en cas d'accident.

5.2.1. *Toxicité orale**Situations dans lesquelles les essais sont requis*

La toxicité orale aiguë de la substance active doit toujours être relatée.

Ligne directrice des essais

Les tests doivent être effectués conformément à l'annexe du règlement (CE) n° 440/2008, méthode B 1 bis ou B 1 ter.

5.2.2. *Toxicité transcutanée**Situations dans lesquelles les essais sont requis*

La toxicité transcutanée aiguë de la substance active doit toujours être relatée.

Ligne directrice des essais

Les effets locaux et systémiques doivent être analysés. L'essai doit être effectué conformément à l'annexe du règlement (CE) n° 440/2008, méthode B 3.

5.2.3. *Toxicité inhalatoire**Situations dans lesquelles les essais sont requis*

La toxicité par inhalation de la substance active doit être relatée si cette dernière:

- est un gaz, notamment liquéfié,
- doit être utilisée comme fumigant,
- doit être incorporée dans une préparation fumigène, aérosolisée ou vaporifère,
- doit être utilisée à l'aide d'un équipement de nébulisation,
- a une pression de vapeur $> 1 \times 10^{-2}$ Pa et doit être incorporée dans des préparations à utiliser dans des espaces clos tels que des magasins ou des serres,
- doit être incorporée dans des préparations pulvérulentes contenant une proportion significative de particules d'un diamètre $< 50 \mu\text{m}$ ($> 1\%$ en masse) ou
- doit être incorporée dans des préparations à appliquer selon un procédé produisant une proportion significative de particules ou de gouttelettes d'un diamètre $< 50 \mu\text{m}$ ($> 1\%$ en masse).

Ligne directrice des essais

Les tests doivent être effectués conformément à l'annexe du règlement (CE) n° 440/2008, méthode B 2.

5.2.4. Irritation cutanée

Objet des essais

Les essais doivent permettre de mettre en évidence le pouvoir irritant pour la peau de la substance active, y compris la réversibilité éventuelle des effets observés.

Situations dans lesquelles les essais sont requis

Le pouvoir irritant pour la peau de la substance active doit être déterminé sauf si, conformément à la ligne directrice des essais, il est probable que des effets graves sur la peau peuvent apparaître ou que l'apparition d'effets peut être exclue.

Ligne directrice des essais

Les essais relatifs à l'irritation cutanée aiguë doivent être effectués conformément à l'annexe du règlement (CE) n° 440/2008, méthode B 4.

5.2.5. Irritation oculaire

Objet des essais

Les essais doivent permettre de mettre en évidence le pouvoir irritant pour les yeux de la substance active, y compris la réversibilité potentielle des effets observés.

Situations dans lesquelles les essais sont requis

Les essais relatifs à l'irritation oculaire doivent être effectués sauf si, comme il est indiqué dans la ligne directrice des essais, il est probable que des effets graves sur les yeux peuvent apparaître.

Ligne directrice des essais

L'irritation oculaire aiguë doit être déterminée conformément à l'annexe du règlement (CE) n° 440/2008, méthode B 5.

5.2.6. Sensibilisation cutanée

Objet des essais

Les essais doivent fournir des données suffisantes pour permettre une évaluation de la capacité de la substance active de provoquer des réactions de sensibilisation cutanée.

Situations dans lesquelles les essais sont requis

Les essais doivent être réalisés en toutes circonstances, sauf si la substance est un sensibilisant connu.

Ligne directrice des essais

L'essai doit être réalisé conformément à l'annexe du règlement (CE) n° 440/2008, méthode B 6.

5.3. Toxicité à court terme

Les études de toxicité à court terme doivent être conçues pour fournir des informations sur la quantité de substance active pouvant être tolérée sans provoquer d'effets toxiques dans les conditions de l'étude. De telles études fournissent des données utiles sur les risques encourus par des personnes manipulant et utilisant des préparations contenant la substance active. En particulier, les études à court terme donnent un aperçu déterminant des effets cumulés possibles de la substance active et des risques encourus par les travailleurs susceptibles d'être exposés de façon intensive. En outre, les études à court terme donnent des informations utiles pour la conception des études de toxicité chronique.

Les études, données et informations à fournir et à évaluer doivent être suffisantes pour permettre de déceler les effets découlant d'une exposition répétée à la substance active, et en outre d'établir ou d'indiquer notamment:

- la relation entre la dose et les effets nocifs,
- la toxicité de la substance active, y compris, si possible, la DSENO,

- les organes ciblés, le cas échéant,
- l'évolution au cours du temps et les caractéristiques de l'empoisonnement avec des détails exhaustifs sur les modifications comportementales et les éventuelles constatations pathologiques à l'inspection post mortem,
- les effets toxiques particuliers et les changements pathologiques produits,
- le cas échéant, la persistance et la réversibilité de certains effets toxiques observés, à la suite d'une interruption d'administration,
- si possible, le mode d'action toxique et
- le danger relatif lié aux diverses voies d'exposition.

5.3.1. Étude de toxicité par voie orale sur 28 jours

Situations dans lesquelles les essais sont requis

Bien qu'il ne soit pas obligatoire d'effectuer des études à court terme de 28 jours, celles-ci peuvent être utiles pour orienter le dosage. Si elles sont effectuées, il convient de les relater, étant donné que leurs résultats pourraient avoir une valeur particulière pour la détection de réactions d'adaptation qui peuvent être masquées dans des études de toxicité chronique.

Ligne directrice des essais

Les essais doivent être réalisés conformément à l'annexe du règlement (CE) n° 440/2008, méthode B 7.

5.3.2. Étude de toxicité par voie orale sur 90 jours

Situations dans lesquelles les essais sont requis

La toxicité par voie orale à court terme (90 jours) de la substance active pour le rat et le chien doit être relatée en toutes circonstances. S'il s'avère que le chien est beaucoup plus sensible, et si les données obtenues peuvent présenter un intérêt en vue de l'extrapolation des résultats obtenus à l'homme, une étude de toxicité de 12 mois sur les chiens doit être effectuée et relatée.

Ligne directrice des essais

Les essais doivent être menés conformément à l'annexe du règlement (CE) n° 440/2008, méthodes B 26 et B 27, essais de toxicité subchronique par voie orale — toxicité orale à doses répétées — 90 jours.

5.3.3. Autres voies d'exposition

Situations dans lesquelles les essais sont requis

Des études supplémentaires sur la toxicité par voie cutanée peuvent être utiles pour l'évaluation de l'exposition de l'opérateur.

Pour les substances volatiles (pression de vapeur $> 10^{-2}$ Pa), l'avis de spécialistes sera requis afin de décider si les études d'exposition à court terme doivent être réalisées par voie orale ou par inhalation.

Ligne directrice des essais

- étude de toxicité par voie cutanée sur 28 jours: annexe du règlement (CE) n° 440/2008, méthode B 9, toxicité à doses répétées (administration cutanée),
- étude de toxicité par voie cutanée sur 90 jours: annexe du règlement (CE) n° 440/2008, méthode B 28, toxicité cutanée subchronique,
- étude de toxicité par inhalation sur 28 jours: annexe du règlement (CE) n° 440/2008, méthode B 8, toxicité à doses répétées (inhalation),
- étude de toxicité par inhalation sur 90 jours: annexe du règlement (CE) n° 440/2008, méthode B 29, toxicité subchronique par inhalation.

5.4. Essais de génotoxicité

Objet des essais

Ces études présentent un intérêt pour:

- la prédiction du pouvoir génotoxique,

- l'identification précoce des cancérogènes génotoxiques,
- l'explication du mécanisme d'action de certains cancérogènes.

Pour éviter toute réponse qui serait le résultat d'artefacts du système d'essai, il faut éviter d'utiliser des doses excessivement toxiques dans les essais de mutagenèse *in vitro* ou *in vivo*. Cette procédure doit être considérée comme une orientation générale. Il importe d'adopter une attitude souple, les autres essais à réaliser devant être fonction de l'interprétation des résultats à chaque étape.

5.4.1. Études *in vitro*

Situations dans lesquelles les essais sont requis

Des essais de mutagenèse *in vitro* (dosage bactérien relatif à la mutation génique, essai de clastogenèse sur des cellules de mammifères et essai de mutation génique sur des cellules de mammifères) doivent toujours être réalisés.

Ligne directrice des essais

Le recours aux lignes directrices suivantes est admis:

- annexe du règlement (CE) n° 440/2008, méthode B 13/14 — essai de mutation réverse sur bactéries,
- annexe du règlement (CE) n° 440/2008, méthode B 10 — essai *in vitro* d'aberration chromosomique sur cellules de mammifère,
- annexe du règlement (CE) n° 440/2008, méthode B 17 — essai *in vitro* de mutation génique sur cellules de mammifère.

5.4.2. Études *in vivo* sur cellules somatiques

Situations dans lesquelles les essais sont requis

Si les résultats des études *in vitro* sont tous négatifs, d'autres essais devront être réalisés en tenant compte d'autres informations pertinentes disponibles (y compris des données toxicocinétiques, toxicodynamiques, physicochimiques et des données sur des substances analogues). Ces études pourraient être une étude *in vivo* ou une étude *in vitro* avec un système métabolique différent de celui ou de ceux utilisés auparavant.

Si l'essai cytogénétique *in vitro* est positif, il convient d'effectuer un essai *in vivo* sur des cellules somatiques (analyse des cellules en métaphase dans la moelle osseuse des rongeurs ou essai du micronoyau de rongeurs).

Si l'un ou l'autre des essais de mutation génique *in vitro* est positif, il faut effectuer un essai *in vivo* afin d'analyser la synthèse non programmée d'ADN (UDS) ou un «spot test» chez la souris.

Ligne directrice des essais

Le recours aux lignes directrices suivantes est admis:

- annexe du règlement (CE) n° 440/2008, méthode B 12 — essai *in vivo* du micronoyau sur érythrocytes de mammifère,
- annexe du règlement (CE) n° 440/2008, méthode B 24 — spot test chez la souris,
- annexe du règlement (CE) n° 440/2008, méthode B 11 — essai *in vivo* d'aberration chromosomique sur moelle osseuse de mammifère.

5.4.3. Études *in vivo* sur cellules germinales

Situations dans lesquelles les essais sont requis

Si l'un quelconque des résultats des essais effectués *in vitro* sur cellules somatiques est positif, la réalisation d'un essai *in vivo* permettant de déterminer les effets sur les cellules germinales peut être justifiée. La nécessité d'effectuer ces essais doit être examinée au cas par cas compte tenu des informations concernant la toxicocinétique, l'utilisation et l'exposition probable. Des essais appropriés (tels que l'essai de létalité dominante) devront permettre d'examiner l'interaction avec l'ADN, de déterminer le risque d'effets héréditaires et, si possible, d'en évaluer quantitativement l'héritabilité. Compte tenu de la complexité des études quantitatives, il est reconnu que le recours à ce type d'études suppose une justification solide.

5.5. Toxicité à long terme et cancérogenèse

Objet des essais

Les études à long terme effectuées et relatées, prises en compte avec d'autres données et informations importantes concernant la substance active, doivent être suffisantes pour permettre de déceler les effets résultant d'expositions répétées à la substance active et être suffisantes notamment pour:

- détecter les effets nocifs résultant de l'exposition à la substance active,
- identifier les organes ciblés, le cas échéant,
- établir la relation dose-réponse,
- déceler les changements dans les signes et les manifestations de toxicité observés
- et fixer la DSENO.

Ici aussi, les études de cancérogenèse, prises en compte avec d'autres données et informations pertinentes sur la substance active, doivent être suffisantes pour permettre d'évaluer les dangers pour les êtres humains ayant subi des expositions répétées à la substance active, et doivent, en particulier, être suffisantes pour:

- mettre en évidence les effets cancérogènes résultant de l'exposition à la substance active,
- déterminer la spécificité des espèces et des organes touchés par les tumeurs induites,
- établir la relation dose-réponse et
- pour les cancérogènes non génotoxiques, déterminer la dose maximale sans effet nocif (dose seuil).

Situations dans lesquelles les essais sont requis

La toxicité à long terme et la cancérogénicité de toute substance active doivent être déterminées. Si, dans des situations exceptionnelles, il est allégué que de tels essais ne sont pas nécessaires, une telle allégation doit être pleinement justifiée, par exemple, au moyen de données toxicocinétiques prouvant que l'absorption de la substance active ne se fait pas dans le tractus digestif, par la peau ou le système respiratoire.

Conditions d'essai

Des études à long terme (deux ans) de toxicité par voie orale et de cancérogénicité de la substance active doivent être effectuées sur le rat; ces études peuvent être combinées.

Une étude de cancérogénicité de la substance active doit aussi être effectuée sur la souris.

Si la présence d'un mécanisme de cancérogénicité non génotoxique est supposée, un dossier bien argumenté, étayé de données expérimentales pertinentes, y compris celles nécessaires pour expliquer le mécanisme éventuellement en cause, doit être fourni.

Si les points de référence types pour les réactions au traitement sont des données provenant de contrôles simultanés, des données de contrôles historiques peuvent être utiles pour l'interprétation de certaines études de cancérogenèse. Si elles sont présentées, les données de contrôle historiques doivent concerner la même espèce et la même souche d'animaux maintenus dans des conditions similaires et provenir d'études faites à la même époque. Les informations sur les données de contrôle historiques fournies doivent comprendre:

- l'identification de l'espèce et de la souche, le nom du fournisseur et l'identification de la colonie spécifique si le fournisseur est implanté dans plusieurs sites géographiques,
- le nom du laboratoire et les dates auxquelles l'étude a été réalisée,
- la description des conditions générales dans lesquelles les animaux ont été maintenus, y compris le type ou la marque de la ration alimentaire et, si possible, les quantités consommées,
- l'âge approximatif, exprimé en jours, des animaux témoins au début de l'étude et à la date de sacrifice des animaux ou de leur mort,

- la description du schéma de mortalité du groupe témoin constaté pendant ou à la fin de l'étude et d'autres observations pertinentes (par exemple, maladies, infections),
- le nom du laboratoire et des experts scientifiques chargés de la réalisation de l'étude et de la collecte et de l'interprétation des données pathologiques relatives à l'étude et
- une déclaration relative à la nature des tumeurs qui peuvent avoir été combinées pour produire une quelconque des données d'incidence.

Les doses expérimentées, y compris la dose la plus élevée, doivent être sélectionnées sur la base des résultats d'essais à court terme et, si elles sont disponibles, à la date de programmation des études considérées sur base des données de métabolisme et de la toxicocinétique. La dose la plus élevée appliquée dans l'étude de la cancérogénicité doit produire des signes de toxicité minimale, telle qu'une légère atténuation du gain de masse corporel (moins de 10 %), sans provoquer de nécrose tissulaire ou de saturation métabolique ni d'altération substantielle de la durée de vie normale due à des effets autres que des tumeurs. Si l'étude de toxicité à long terme est effectuée séparément, la dose la plus élevée doit produire des signes évidents de toxicité sans provoquer une létalité excessive. Des doses plus élevées, produisant une toxicité excessive, ne sont pas considérées comme pertinentes pour les évaluations à effectuer.

Dans la collecte des données et la compilation des rapports, l'incidence des tumeurs bénignes et celle des tumeurs malignes ne doivent pas être combinées, sauf s'il existe une preuve évidente que les tumeurs bénignes se transforment en tumeurs malignes avec le temps. De même, des tumeurs dissemblables, non associées, bénignes ou malignes, apparaissant dans le même organe, ne doivent pas être combinées pour l'établissement des rapports. Pour prévenir toute confusion, une terminologie telle que celles mises au point par l'American Society of Toxicologic Pathologists ⁽¹⁾ ou pour le registre (RENI) des tumeurs tenu à Hannover doit être utilisée pour la nomenclature et le signalement des tumeurs. Le système utilisé doit être identifié.

Il est d'une importance capitale que le matériel biologique retenu pour l'examen histopathologique comprenne du matériel sélectionné pour donner d'autres informations sur les lésions constatées au cours de l'examen macropathologique. Si elles conviennent pour élucider le mécanisme d'action et sont disponibles, des techniques histologiques spécifiques (coloration), des techniques histochimiques et les possibilités d'analyse au microscope électronique doivent être utilisées et les résultats doivent en être relatés.

Ligne directrice des essais

Les études doivent être effectuées conformément à l'annexe du règlement (CE) n° 440/2008, méthode B 30: étude de la toxicité chronique, méthode B 32: étude de cancérogénèse ou méthode B 33: étude combinée de cancérogénèse et de toxicité chronique.

5.6. Toxicité pour la reproduction

Les effets nocifs pour la reproduction sont essentiellement de deux types:

- troubles de la fertilité (mâles ou femelles), et
- effets sur le développement normal de la descendance (toxicité du développement).

Les effets possibles sur tous les aspects physiologiques de la reproduction tant chez les mâles que chez les femelles, ainsi que les effets éventuels sur le développement prénatal et postnatal doivent être recherchés et relatés. Si, dans des situations exceptionnelles, il est allégué que de tels essais ne sont pas nécessaires, une telle allégation doit être pleinement justifiée.

Si les points de référence types pour les réactions au traitement sont des données provenant de contrôles simultanés, des données de contrôles historiques peuvent être utiles pour l'interprétation de certaines études de reproduction. Si elles sont présentées, les données de contrôle historiques doivent concerner la même espèce et la même souche d'animaux maintenus dans des conditions similaires et provenir d'études faites à la même époque. Les informations concernant les données de contrôle historiques doivent comporter:

- l'identification de l'espèce et de la souche, le nom du fournisseur et l'identification de la colonie spécifique si le fournisseur est implanté dans plusieurs sites géographiques,
- le nom du laboratoire et les dates auxquelles l'étude a été réalisée,

⁽¹⁾ Standardised System of Nomenclature and Diagnostic Criteria — Guides for Toxicologic Pathology.

- la description des conditions générales dans lesquelles les animaux ont été maintenus, y compris le type ou la marque de la ration alimentaire et, si possible, les quantités consommées,
- l'âge approximatif, exprimé en jours, des animaux témoins au début de l'étude et à la date de sacrifice des animaux ou de leur mort,
- la description du schéma de mortalité du groupe témoin constaté pendant ou à la fin de l'étude et d'autres observations pertinentes (par exemple, maladies, infections) et
- le nom du laboratoire et des experts scientifiques chargés de la réalisation de l'étude et de la collecte et de l'interprétation des données toxicologiques relatives à l'étude.

5.6.1. Études sur plusieurs générations

Objet des essais

Les études relatives, associées à d'autres données et informations importantes sur la substance active, doivent être suffisantes pour permettre de déceler les effets pour la reproduction découlant d'une exposition répétée à la substance active et doivent notamment être suffisantes pour:

- détecter les effets directs et indirects sur la reproduction d'une exposition à la substance active,
- mesurer toute aggravation des effets toxiques globaux (constatés lors des essais de toxicité chronique et à court terme),
- fixer la relation dose-réponse,
- déceler les changements dans les signes et les manifestations de toxicité observés
- et fixer la DSENO.

Situations dans lesquelles les essais sont requis

Une étude de toxicité pour la reproduction menée sur deux générations de rats au moins doit toujours être relatée.

Ligne directrice des essais

L'essai doit être réalisé conformément à l'annexe du règlement (CE) n° 440/2008, méthode B 35, étude de toxicité pour la reproduction sur deux générations. En outre, la masse des organes reproducteurs doit être consignée.

Études supplémentaires

Pour obtenir une meilleure interprétation des effets sur la reproduction et dans la mesure où cette information n'est pas encore disponible, il pourrait être utile de procéder à des études supplémentaires afin de fournir des informations sur les points suivants:

- données séparées pour les mâles et les femelles,
- données des trois segments,
- essai de létalité dominante pour la fertilité des mâles,
- accouplements croisés de mâles traités avec des femelles non traitées et vice-versa,
- effets sur la spermatogenèse,
- effets sur l'ovogenèse,
- motilité, mobilité et morphologie des spermatozoïdes et
- étude de l'activité hormonale.

5.6.2. Études de la toxicité pour le développement

Objet des essais

Les études relatives, associées à d'autres données et informations pertinentes sur la substance active, doivent être suffisantes pour permettre d'évaluer les effets sur le développement de l'embryon et du fœtus à la suite d'expositions répétées à la substance active, et doivent notamment être suffisantes pour:

- détecter les effets directs et indirects sur le développement de l'embryon et du fœtus à la suite d'une exposition à la substance active,
- relever toute toxicité chez la mère,
- établir la relation entre les réactions observées et la dose tant chez la femelle que dans sa descendance,
- déceler les changements de signes et de manifestations de toxicité observés
- et fixer la DSENO.

Par ailleurs, les essais donneront des informations supplémentaires sur toute aggravation des effets toxiques globaux chez les animaux gravides.

Situations dans lesquelles les essais sont requis

Les essais doivent toujours être effectués.

Conditions d'essai

La toxicité pour le développement doit être déterminée chez le rat et chez le lapin après une exposition par voie orale. Noter séparément les malformations et les altérations. Un glossaire terminologique et les principes de diagnostic doivent être donnés dans le rapport pour toutes les malformations et altérations.

Ligne directrice des essais

L'essai doit être réalisé conformément à l'annexe du règlement (CE) n° 440/2008, méthode B 31, étude de la toxicité pour le développement prénatal.

5.7. Études de neurotoxicité retardée

Objet des essais

Les essais doivent fournir des données suffisantes pour évaluer la capacité de la substance active de provoquer une neurotoxicité différée après une exposition aiguë.

Situations dans lesquelles les essais sont requis

Ces études doivent être effectuées pour les substances de structure analogue ou apparentée à la structure de celles susceptibles d'induire une neurotoxicité retardée, comme les organophosphates.

Ligne directrice des essais

Les essais doivent être effectués conformément à la ligne directrice 418 de l'OCDE.

5.8. Autres études toxicologiques

5.8.1. Études de toxicité des métabolites visés au point vii) de l'introduction

Les études complémentaires concernant des substances autres que la substance active ne sont pas requises de façon routinière.

Les décisions relatives à la nécessité d'effectuer des études complémentaires doivent être prises au cas par cas.

5.8.2. Études complémentaires sur la substance active

Dans certains cas, il peut être nécessaire d'effectuer des études complémentaires pour clarifier certains effets observés, comme:

- des études sur l'absorption, la distribution, l'excrétion et le métabolisme,
- l'étude du potentiel neurotoxique,
- l'étude du potentiel immunotoxicologique,
- des études sur d'autres voies d'administration.

Les décisions relatives à la nécessité d'effectuer des études complémentaires doivent être prises au cas par cas, compte tenu des résultats des études toxicologiques et du métabolisme existantes et des voies d'exposition les plus importantes.

Les études requises peuvent être conçues sur une base individuelle, compte tenu des paramètres spécifiques à examiner et des objectifs à atteindre.

5.9. Données médicales

Si elles sont disponibles, et sans préjudice des dispositions de l'article 10 de la directive 98/24/CE du Conseil ⁽¹⁾, les données et informations pratiques importantes pour la reconnaissance des symptômes d'empoisonnement et sur l'efficacité des mesures de premiers soins et thérapeutiques doivent être présentées. Des références plus spécifiques concernant l'étude sur animaux de la pharmacologie relative aux antidotes ou à la sécurité doivent être fournies. S'il y a lieu, l'efficacité d'antidotes potentiels à l'empoisonnement doit être étudiée et relatée.

Les données et les informations concernant les effets de l'exposition humaine, pour autant qu'elles soient disponibles au niveau de qualité nécessaire, ont une valeur particulière parce qu'elles peuvent confirmer le bien-fondé des extrapolations et des conclusions relatives aux organes ciblés, aux relations doses-réponses et à la réversibilité des effets toxiques. De telles données peuvent être obtenues à la suite d'expositions résultant d'accidents ou d'activités professionnelles.

5.9.1. Surveillance médicale du personnel de l'établissement de fabrication

Les rapports des programmes de surveillance de la médecine du travail, étayés d'informations détaillées sur la conception du programme, l'exposition à la substance active et l'exposition à d'autres produits chimiques, doivent être présentés. Ces rapports doivent comprendre, dans la mesure du possible, des données relatives au mécanisme d'action de la substance active. De même, ils doivent comporter les données éventuellement disponibles concernant les personnes exposées dans les usines de fabrication ou après application de la substance active (par exemple lors d'essais d'efficacité).

Toute information disponible sur des cas de sensibilisation, y compris de réaction allergique de travailleurs et d'autres personnes exposées à la substance active, doit être fournie assortie, le cas échéant, d'informations relatives à toute incidence d'hypersensibilité. Les informations fournies doivent comporter des détails sur la fréquence, le niveau et la durée de l'exposition, les symptômes observés et autres informations cliniques pertinentes.

5.9.2. Observation directe, par exemple cas cliniques et cas d'empoisonnement

Les rapports disponibles provenant de sources bibliographiques publiques relatifs à des cas cliniques et d'empoisonnement doivent être présentés, s'ils sont issus de revues autorisées ou de rapports officiels, ainsi que tout rapport concernant d'éventuelles études de suivi. Ces rapports doivent comporter des descriptions exhaustives de la nature, du degré et de la durée de l'exposition ainsi que la mention des symptômes cliniques observés, les dispositions relatives aux mesures de premiers soins et thérapeutiques appliquées, les données mesurées et les observations faites. Un résumé ou des informations succinctes sont sans intérêt.

Si elle est étayée de précisions suffisantes, une telle documentation peut être particulièrement utile pour confirmer la validité des extrapolations de l'animal à l'être humain et pour déceler tout effet nocif inattendu spécifique à l'homme.

⁽¹⁾ JO L 131 du 5.5.1998, p. 11.

5.9.3. Observations sur l'exposition de la population en général et, le cas échéant, études épidémiologiques

Lorsqu'elles existent et qu'elles sont étayées par des données sur les degrés et la durée d'exposition, et réalisées conformément à des normes reconnues⁽¹⁾, les études épidémiologiques présentent un intérêt particulier et doivent être soumises.

5.9.4. Diagnostic de l'empoisonnement (détermination de la substance active, de métabolites), signes spécifiques d'empoisonnement, essais cliniques

Une description détaillée des signes et symptômes cliniques d'empoisonnement, y compris les signes et symptômes précoces ainsi que les détails complets des essais cliniques utiles à des fins diagnostiques doit, le cas échéant, être fournie et comporter des informations exhaustives sur l'évolution au cours du temps concernant l'ingestion, l'exposition par voie cutanée ou l'inhalation de diverses quantités de la substance active.

5.9.5. Traitement proposé: premiers soins, antidotes, traitement médical

Les mesures de premiers soins à appliquer en cas d'empoisonnement (réel ou supposé) et en cas de contamination des yeux doivent être fournies.

Les traitements thérapeutiques à appliquer en cas d'empoisonnement ou de contamination des yeux, y compris, éventuellement, l'utilisation d'antidote, doivent faire l'objet d'une description exhaustive. Des informations relatives à l'efficacité de régimes thérapeutiques de substitution fondées sur l'expérience pratique ou, à défaut, sur des considérations théoriques, doivent être fournies le cas échéant. Les contre-indications liées à certains traitements, particulièrement ceux dispensés en cas de «maladies et problèmes médicaux généraux», doivent être décrites.

5.9.6. Effets prévisibles d'un empoisonnement

S'ils sont connus, les effets prévisibles d'un empoisonnement et la durée de ceux-ci doivent être décrits, cette description devant porter notamment sur:

- l'incidence de la nature, du degré et de la durée de l'exposition ou de l'ingestion, et
- les diverses durées entre l'exposition ou l'ingestion et le commencement du traitement.

5.10. Résumé de la toxicologie chez les mammifères et évaluation globale

Un résumé de toutes les données et informations fournies en application des points 5.1 à 5.10, doit être présenté et doit comporter une évaluation détaillée et critique desdites données qui réponde aux lignes directrices et critères d'appréciation et de décision en mettant l'accent, en particulier, sur les risques et dangers réels et potentiels présentés pour l'homme et les animaux, et apprécie l'ampleur, la qualité et la fiabilité de la base de données.

Le cas échéant, compte tenu du profil analytique des lots de la substance active (point 1.11) et de toute étude de recoupement effectuée [section 5, introduction, point iv)], la pertinence des données proposées pour l'évaluation du profil toxicologique de la substance active technique doit être étayée.

À partir d'une évaluation de la base de données ainsi que des critères et lignes directrices pertinents pour la décision, des justifications doivent être données pour les DSENO proposées pour chaque étude pertinente.

Sur la base de ces données, des propositions motivées scientifiquement, relatives à la fixation d'une DJA et d'un ou de plusieurs NAE0 concernant la substance active doivent être présentées.

6. Résidus dans ou sur les produits traités, les denrées alimentaires et les aliments pour animaux

Introduction

- i) Les informations fournies, jointes à celles données pour une ou plusieurs préparations contenant la substance active, doivent être suffisantes pour permettre une évaluation des risques pour l'homme provenant des résidus de la substance active, des métabolites pertinents et des produits de dégradation et de réaction sensibles présents dans les denrées alimentaires. En outre, les informations fournies doivent être suffisantes pour:

- permettre une décision quant à l'approbation éventuelle de la substance active,
- fixer les conditions ou restrictions appropriées liées à toute approbation.

⁽¹⁾ *Guidelines for Good Epidemiology Practices for Occupational and Environmental Research*, developed by the Chemical Manufacturers Association's Epidemiology Task Group, as part of the Epidemiology Resource and Information Centre (ERIC), Pilot Project, 1991.

- ii) Une description détaillée (spécification) de la substance utilisée, visée au point 1.11, doit être fournie.
- iii) Les études doivent être effectuées conformément aux lignes directrices de l'Union européenne pour la production de données relatives aux résidus ⁽¹⁾.
- iv) Le cas échéant, les données sont analysées à l'aide de méthodes statistiques appropriées. Des informations exhaustives seront fournies sur l'analyse statistique.
- v) Stabilité des résidus pendant le stockage

Il peut être nécessaire d'effectuer des études sur la stabilité des résidus pendant le stockage. Sauf si un composé est réputé par ailleurs volatil ou instable, les données ne sont en principe pas requises pour les échantillons extraits et analysés dans les trente jours à compter du prélèvement des échantillons (six mois s'il s'agit d'une substance radiomarquée), pourvu que ceux-ci soient généralement congelés dans les vingt-quatre heures suivant le prélèvement des échantillons.

Des études au moyen de substances non radiomarquées doivent être effectuées avec des substrats représentatifs et, de préférence, sur des échantillons provenant de cultures ou d'animaux traités contenant des résidus. En cas d'impossibilité, en revanche, des fractions aliquotes d'échantillons de contrôle préparés doivent être additionnées d'une quantité connue de produit chimique avant d'être entreposées dans des conditions de stockage normales.

Si la dégradation au cours du stockage est significative (plus de 30 %), il peut être nécessaire de modifier les conditions de stockage ou de ne pas stocker les échantillons avant analyse et de répéter les études dans lesquelles les conditions de stockage n'étaient pas satisfaisantes.

Il convient de présenter des informations détaillées sur la préparation des échantillons et les conditions de stockage (température et durée) des échantillons et extraits. Les données concernant la stabilité au stockage sur la base d'extraits d'échantillons sont aussi exigées sauf si les échantillons sont analysés dans un délai de vingt-quatre heures après leur extraction.

6.1. *Métabolisme, distribution et expression du résidu dans les végétaux*

Objet des essais

Les objectifs de ces études sont les suivants:

- permettre une estimation des résidus finaux totaux dans la fraction pertinente des produits de la récolte qui ont été traités selon le programme prévu,
- identifier les composants principaux du résidu final total,
- indiquer la distribution des résidus entre les fractions pertinentes du produit de la récolte,
- quantifier les composants principaux du résidu et établir l'efficacité des méthodes d'extraction de ces composants,
- fixer la définition et l'expression d'un résidu.

Situations dans lesquelles les essais sont requis

Ces études doivent toujours être effectuées sauf s'il est possible de démontrer qu'aucun résidu ne sera présent sur les végétaux/produits végétaux utilisés comme denrées alimentaires ou aliments pour animaux.

Conditions d'essai

Les études du métabolisme doivent porter sur des cultures ou catégories de culture dans lesquelles seraient utilisés des produits phytopharmaceutiques contenant la substance active. Si l'on considère une vaste gamme d'utilisations sur diverses catégories de cultures ou dans la catégorie des fruits, il convient d'effectuer des études sur au moins trois cultures sauf s'il peut être justifié qu'un métabolisme différent est peu probable. Dans les cas où l'utilisation est prévue sur diverses catégories de cultures les études doivent être représentatives des catégories visées. À cet effet, les cultures peuvent être considérées comme appartenant à une des cinq catégories suivantes: légumes racines, cultures à feuilles, fruits, légumineuses et oléagineux, céréales. Si des études existent pour les cultures appartenant à trois de ces catégories et que les résultats démontrent que la voie de dégradation est similaire pour l'ensemble de ces trois catégories, il est peu probable que des études complémentaires soient nécessaires, sauf si l'on peut s'attendre à un métabolisme différent. Les études du métabolisme doivent aussi prendre en compte les diverses propriétés de la substance active et la méthode d'application prévue.

⁽¹⁾ http://ec.europa.eu/food/plant/protection/resources/publications_en.htm#residues.

Une évaluation des résultats des diverses études doit être fournie au sujet du point et de la voie d'absorption (par exemple par les feuilles ou les racines) et de la distribution des résidus entre les parties caractéristiques de la culture au moment de la récolte (l'accent étant placé en particulier sur les parties pouvant être utilisées pour l'alimentation humaine ou animale). Si la substance active ou les métabolites pertinents ne sont pas absorbés par la culture, en donner l'explication. Les informations sur le mode d'action et les propriétés physicochimiques de la substance active peuvent être utilisées pour interpréter les données des essais.

6.2. *Métabolisme, distribution et expression des résidus dans les animaux d'élevage*

Objet des essais

Les objectifs de ces études sont les suivants:

- identifier les principaux composants du résidu final total dans les produits animaux comestibles,
- chiffrer le taux de dégradation et d'excrétion du résidu total dans certains produits animaux (lait ou œufs) et excréments animales,
- indiquer la distribution des résidus entre les produits animaux comestibles pertinents,
- quantifier les principaux composants du résidu et démontrer l'efficacité des méthodes d'extraction de ces composants,
- produire des données pouvant servir à la prise d'une décision sur la nécessité d'effectuer des études sur l'alimentation animale conformément au point 6.4,
- fixer la définition et l'expression d'un résidu.

Situations dans lesquelles les essais sont requis

Les études du métabolisme sur des animaux, tels que les ruminants en lactation (par exemple la chèvre ou la vache) ou la volaille en période de ponte, ne sont requises que si l'utilisation du pesticide peut aboutir à la présence de résidus significatifs dans les aliments pour animaux ($\geq 0,1$ mg/kg de la ration fourragère totale ingérée, sauf cas particuliers comme les substances actives accumulables, par exemple). S'il apparaît que les voies du métabolisme diffèrent dans des proportions significatives chez le rat par rapport aux ruminants, une étude sur le porc doit être effectuée, sauf si l'on prévoit que l'absorption par les porcs ne sera pas significative.

6.3. *Essais relatifs aux résidus*

Objet des essais

Les objectifs de ces études sont les suivants:

- quantifier les concentrations de résidus maximales probables dans les cultures traitées, au moment de leur récolte ou de la sortie du stock conformément aux bonnes pratiques agricoles proposées et
- déterminer, le cas échéant, le rythme de diminution des dépôts du produit phytopharmaceutique.

Situations dans lesquelles les essais sont requis

Ces études doivent toujours être effectuées lorsque le produit phytopharmaceutique doit être appliqué sur des végétaux/produits végétaux utilisés comme denrées alimentaires ou aliments pour les animaux ou lorsque les résidus contenus dans le sol ou dans d'autres substrats peuvent être absorbés par ces végétaux, sauf s'il est possible de pratiquer une extrapolation à partir de données adéquates sur une autre culture.

Les données d'essais relatifs aux résidus devront être présentées dans le dossier pour les utilisations de produits phytopharmaceutiques pour lesquels l'autorisation est demandée à la date de soumission d'un dossier d'approbation de la substance active.

Conditions d'essai

Les essais contrôlés doivent correspondre aux bonnes pratiques agricoles limites proposées. Les conditions d'essai doivent prendre en considération les concentrations de résidus maximales pouvant raisonnablement se présenter (par exemple, nombre maximal d'applications proposées, utilisation de la dose maximale prévue, délais avant récolte, de rétention ou de stockage les plus courts), mais restant représentatives des conditions réalistes les plus défavorables dans lesquelles la substance active serait utilisée.

Il faut produire et présenter des données suffisantes pour qu'il puisse être confirmé que les schémas envisagés sont valables pour les régions concernées et l'éventail de conditions susceptibles d'y être rencontrées, pour lesquels l'utilisation du produit est recommandée.

Pour la fixation du programme d'essais contrôlés, il faut normalement prendre en considération des facteurs comme les différences climatiques entre zones de production, les différences dans les méthodes de production (par exemple, utilisation en plein air ou utilisation en serre), les époques de production, les types de formulation, etc.

En général, pour un ensemble comparable de conditions, les essais doivent être effectués sur au moins deux périodes de végétation. Toutes les dérogations doivent être pleinement justifiées.

Le nombre exact d'essais nécessaires peut difficilement être fixé sans évaluation préliminaire des résultats d'essai. Les exigences quant aux données minimales s'appliquent exclusivement si la comparabilité peut être établie entre zones de production, c'est-à-dire au sujet du climat, des méthodes et des périodes de végétation, etc. Dans l'hypothèse où toutes les autres variables (climat, etc.) sont comparables, un minimum de huit essais représentatifs de la zone de production proposée est exigé pour les grandes cultures. Pour les cultures d'importance mineure, il est normalement exigé quatre essais représentatifs de la zone de production proposée.

Étant donné le degré d'homogénéité intrinsèquement supérieur des résidus obtenus avec des traitements postérieurs à la récolte ou sur des cultures protégées, les essais relatifs à une seule période de production peuvent être acceptés. Pour les traitements postérieurs à la récolte, au moins quatre essais sont en principe exigés, ces essais devant être effectués de préférence en différents endroits sur diverses variétés. Une série d'essais doit être réalisée pour chaque méthode d'application et type de stockage à moins qu'il soit possible de déterminer clairement la situation la plus défavorable quant aux résidus.

Le nombre d'études réalisées par période de végétation peut être réduit s'il peut être démontré que les teneurs des végétaux/produits végétaux en résidus seront inférieures à la limite de détermination.

Si une partie significative de la culture comestible existe au moment de l'application, la moitié des essais contrôlés concernant les résidus relatés doit inclure des données destinées à mettre en évidence l'effet du facteur temps sur la concentration de résidus présents (courbes de dégradation des résidus), sauf s'il peut être démontré que la culture comestible n'est pas touchée par l'application du produit phytopharmaceutique dans les conditions d'utilisation proposées.

6.4. *Études sur l'alimentation des animaux*

Objet des essais

L'objectif de ces études est de doser les résidus provenant des aliments pour animaux ou cultures fourragères qui sont passés dans des produits d'origine animale.

Situations dans lesquelles les essais sont requis

Les études relatives à l'alimentation des animaux ne sont requises que:

- si la présence de résidus significatifs ($\geq 0,1$ mg/kg de la ration fourragère totale distribuée, sauf cas particuliers comme celui des substances actives accumulables) est observée dans les cultures ou parties de végétaux (épluchures ou déchets, par exemple) utilisées pour l'alimentation animale et
- s'il ressort des études du métabolisme que des résidus significatifs (0,01 mg/kg ou en concentration supérieure à la limite de détermination, si celle-ci était supérieure à 0,01 mg/kg) peuvent se présenter dans tout tissu animal comestible, compte tenu des concentrations de résidus présentes dans les aliments potentiels pour animaux obtenues à la suite de l'administration d'une dose.

Le cas échéant, des études distinctes, relatives à l'alimentation des animaux pour les ruminants en lactation et/ou la volaille en période de ponte doivent être présentées. S'il ressort des études du métabolisme présentées conformément au point 6.2 que les voies métaboliques diffèrent dans des proportions significatives pour le porc comparativement aux ruminants, une étude sur l'alimentation des porcs doit être effectuée, sauf si l'on prévoit que l'absorption par les porcs ne sera pas significative.

Conditions d'essai

En général, l'aliment est administré selon trois dosages (concentration de résidus prévue, concentration trois à cinq fois supérieure et dix fois supérieure à la concentration prévue). La dose unique est calculée sur la base d'une ration fourragère théorique.

6.5. *Effets de la transformation industrielle et/ou des préparations domestiques*

Situations dans lesquelles les essais sont requis

La décision quant à la nécessité d'effectuer des études relatives à la transformation dépend:

- de la place prise par un produit transformé dans la ration alimentaire ou fourragère,
- de la concentration des résidus dans le végétal ou produit végétal à transformer,

- des propriétés physicochimiques de la substance active ou des métabolites pertinents et
- de la possibilité que des produits de dégradation en teneur toxicologiquement significative soient détectés après la transformation des végétaux ou du produit végétal.

Des études relatives à la transformation ne sont normalement pas nécessaires si aucun résidu significatif ou décelable par analyse ne se présente dans le végétal ou le produit végétal à transformer, ou si la dose journalière théorique (DJT) maximale est inférieure à 10 % de la DJA. En outre, des études relatives à la transformation ne sont normalement pas nécessaires pour les végétaux ou produits végétaux essentiellement consommés crus, à l'exception de ceux comprenant une fraction non comestible (par exemple agrumes, bananes, kiwis) où des données relatives à la distribution entre la peau et la pulpe peuvent être requises.

L'expression «résidu significatif» s'applique généralement à des concentrations supérieures à 0,1 mg/kg. Si le pesticide en cause se caractérise par une toxicité aiguë élevée et/ou une faible DJA, il doit être envisagé d'effectuer des études relatives à la transformation pour des résidus décelables d'une concentration inférieure à 0,1 mg/kg.

Des études relatives aux effets sur la nature du résidu ne sont normalement pas requises si on n'applique normalement que des opérations physiques simples n'entraînant pas de changement de la température du végétal ou du produit végétal, comme le lavage, l'épluchage ou le pressage.

6.5.1. Effets sur la nature des résidus

Objet des essais

L'objectif de ces études est de déterminer si la présence de résidus dans les produits crus entraîne ou non la formation de produits de dégradation ou de réaction pendant la transformation, ce qui peut nécessiter une évaluation séparée du risque.

Conditions d'essai

En fonction de la concentration et de la nature chimique du résidu contenu dans le produit cru, diverses conditions d'hydrolyse représentatives (simulant les opérations de transformation caractéristiques) doivent être examinées, le cas échéant. Il se peut aussi qu'il faille analyser les effets de processus autres que l'hydrolyse, lorsque les propriétés de la substance active ou des métabolites laissent supposer la présence de produits de dégradation ayant une importance toxicologique à la suite de ces processus. Les études sont normalement conduites avec une substance active radiomarquée.

6.5.2. Effets sur les concentrations de résidus

Objet des essais

Les principaux objectifs de ces études sont les suivants:

- déterminer la distribution quantitative des résidus dans les divers produits intermédiaires et finis et estimer les facteurs de transfert,
- permettre une estimation plus réaliste de l'ingestion de résidus par la ration alimentaire ou fourragère.

Conditions d'essai

Les études relatives à la transformation doivent être représentatives des méthodes de transformation domestiques et/ou de véritables méthodes industrielles.

Dans le premier cas, il est habituellement nécessaire d'effectuer seulement un ensemble fondamental d'«études de bilan», représentatives des procédés communs applicables à des végétaux ou produits végétaux contenant des résidus significatifs. Le choix de ces procédés représentatifs doit être justifié. La technologie à appliquer dans les études relatives à la transformation doit toujours correspondre aussi étroitement que possible aux conditions réelles normalement rencontrées. Il convient d'établir un bilan analysant sous l'angle de leur masse les résidus contenus dans tous les produits intermédiaires et finis. L'établissement d'un tel bilan permet aussi de reconnaître toutes concentrations ou réductions des résidus dans les produits particuliers et de déterminer les facteurs de transfert correspondants.

Si les produits végétaux transformés prennent une place importante dans la ration, et s'il ressort de l'étude de bilan qu'un transfert significatif de résidus dans le produit transformé pourrait se produire, trois «études de suivi» doivent être effectuées en vue de déterminer la concentration des résidus ou les facteurs de dilution.

6.6. Résidus contenus dans les cultures suivantes

Objet des essais

L'objectif de ces études est de permettre une évaluation des résidus pouvant être contenus dans les cultures suivantes.

Situations dans lesquelles les essais sont requis

Si des données obtenues conformément au point 7.1 de la présente annexe ou au point 9.1 de l'annexe du règlement (UE) n° 545/2011 démontrent que des résidus significatifs (en concentrations supérieures à 10 % de la quantité de substance active appliquée calculés sur le total de la quantité de substance active non modifiée et de ses principaux métabolites ou produits de dégradation) demeurent dans le sol ou les matériels végétaux tels que la paille ou les matières organiques jusqu'à l'époque des semis ou de la plantation des éventuelles cultures suivantes, de sorte que la concentration de résidus pourrait être supérieure à la limite de détermination dans les cultures suivantes au moment de la récolte, il convient d'examiner la situation quant aux résidus. Ceci comprend l'analyse de la nature du résidu contenu dans les cultures suivantes et suppose au moins une estimation théorique des doses de ces résidus. Si la probabilité de présence de résidus dans les cultures suivantes ne peut pas être exclue, des études du métabolisme et de la distribution doivent être effectuées et suivies, si nécessaire, d'essais au champ.

Conditions d'essai

Si une estimation théorique des résidus contenus dans les cultures suivantes est effectuée, donner des détails exhaustifs ainsi qu'une justification.

Si des études du métabolisme et de la distribution ainsi que des essais au champ sont nécessaires, il convient de les effectuer sur des cultures représentatives d'une pratique agricole normale.

6.7. *Limites maximales de résidus proposées et définition du résidu*

Les limites maximales de résidus proposées doivent être entièrement justifiées et comprendre, le cas échéant, des données complètes relatives à l'analyse statistique appliquée.

Pour juger des composés à inclure dans la définition du résidu, il convient de tenir compte de l'importance toxicologique des composés, des quantités pouvant être présentes et de l'applicabilité des méthodes d'analyse proposées pour le contrôle et la surveillance postérieurs à l'enregistrement.

6.8. *Propositions relatives aux délais avant récolte pour les utilisations envisagées, ou aux délais de rétention ou de stockage en cas d'utilisations postérieures à la récolte*

Les propositions doivent être entièrement justifiées.

6.9. *Estimation de l'exposition potentielle ou réelle imputable au régime alimentaire ou à d'autres causes*

Il convient d'établir de manière réaliste la prévision de l'ingestion par le régime alimentaire ou fourrager, ce qui peut se faire de manière progressive pour aboutir à une prévision de plus en plus réaliste de l'ingestion. Prendre éventuellement en considération d'autres sources d'exposition caractéristiques telles que les résidus de médicaments, notamment vétérinaires.

6.10. *Résumé et évaluation du comportement des résidus*

Un résumé et une évaluation de toutes les données exposées dans la présente section doivent être effectués conformément aux lignes directrices établies par les autorités compétentes des États membres au sujet du format de tels résumés et évaluations. Le document doit comporter une évaluation détaillée et critique desdites données qui réponde aux lignes directrices et critères d'appréciation et de décision en mettant l'accent, en particulier, sur les risques et dangers réels et potentiels présentés pour l'homme et les animaux, et apprécie l'ampleur, la qualité et la fiabilité de la base de données.

En particulier, l'importance toxicologique de tout métabolite trouvé chez les animaux autres que les mammifères doit être examinée.

Un diagramme schématique doit être établi pour le trajet métabolique dans les végétaux et animaux avec une brève explication de la distribution et des modifications chimiques en cause.

7. **Devenir et comportement dans l'environnement**

Introduction

- i) Les informations fournies jointes à celles concernant une ou plusieurs préparations contenant la substance active, devront être suffisantes pour permettre une évaluation du devenir et du comportement de la substance active dans l'environnement, ainsi que du comportement des espèces non ciblées pouvant être menacées par une exposition à la substance active, ses métabolites et produits de dégradation et de réaction lorsque ceux-ci pertinents ou sensibles sur le plan toxicologique ou environnemental.

- ii) En particulier, les informations fournies relatives à la substance active, jointes à d'autres informations pertinentes, ainsi que celles concernant une ou plusieurs préparations contenant la substance active, doivent être suffisantes pour:
- permettre une décision quant à l'approbation éventuelle de la substance active,
 - fixer les conditions ou restrictions appropriées liées à toute approbation,
 - classer la substance active quant aux dangers,
 - fixer les pictogrammes, les mentions d'avertissements et les mentions de danger et conseils de prudence appropriés pour la protection de l'environnement, à faire figurer sur l'emballage (récipients),
 - prévoir la dispersion, le devenir et le comportement dans l'environnement de la substance active, des métabolites pertinents et des produits de dégradation et de réaction sensibles ainsi que les durées correspondantes,
 - identifier les espèces et populations non ciblées menacées en raison d'une exposition éventuelle et
 - définir les mesures nécessaires pour réduire au minimum la contamination de l'environnement et l'incidence sur les espèces non ciblées.
- iii) Une description détaillée (spécification) du matériel utilisé, mentionnée au point 1.11, doit être fournie. Lorsque les essais sont effectués avec la substance active, le matériel utilisé doit posséder les spécifications du produit utilisé dans la fabrication des préparations à autoriser, sauf s'il s'agit d'un produit radiomarqué.
- Si des études sont effectuées avec de la substance active produite en laboratoire ou dans une installation pilote, elles doivent être répétées avec de la substance active technique, sauf s'il peut être justifié que le matériel soumis aux essais est essentiellement le même aux fins des essais et des évaluations à caractère environnemental.
- iv) Si les essais sont effectués à l'aide d'une substance radiomarquée, le marquage doit être situé sur un site (ou plusieurs si nécessaire) permettant l'analyse des voies du métabolisme et de la dégradation ainsi que les études sur la dispersion de la substance active et de ses métabolites, produits de réaction et de dégradation dans l'environnement.
- v) Il peut être nécessaire d'effectuer des études séparées concernant les métabolites, les produits de dégradation ou de réaction quand ces produits peuvent constituer un risque significatif pour les organismes non ciblés ou la qualité de l'eau, du sol et de l'air et quand leurs effets ne peuvent être évalués à partir des résultats concernant la substance active. Avant d'effectuer ces études, il convient de tenir compte des informations des sections 5 et 6.
- vi) Le cas échéant, les essais doivent être conçus et les données analysées en utilisant les méthodes statistiques adéquates.

Les analyses statistiques doivent être rapportées de manière circonstanciée (par exemple, toutes les estimations ponctuelles doivent être délimitées par un intervalle de confiance et il y a lieu de fournir les valeurs de probabilité exactes plutôt que d'utiliser la mention «significatif/non significatif»).

7.1. *Devenir et comportement dans le sol*

Toutes les informations pertinentes concernant le type et les propriétés du sol utilisé pour les études, y compris le pH, la teneur en carbone organique, la capacité d'échange cationique, la granulométrie et la capacité de rétention d'eau à $pF = 0$ et $pF = 2,5$ doivent être rapportées conformément aux normes ISO ou autres normes internationales applicables.

La biomasse microbienne des sols utilisés pour les études de dégradation en laboratoire doit être déterminée juste avant le début et à la fin de l'étude.

Il est recommandé d'utiliser dans la mesure du possible les mêmes sols au cours de toutes les études sur sol réalisées en laboratoire.

Les sols utilisés pour les études de dégradation ou de mobilité doivent être choisis en fonction de leur caractère représentatif de la gamme de sols caractéristiques des différentes régions de l'Union où l'utilisation existe ou est prévue, et doivent:

- couvrir une plage de teneurs en carbone organique, de distribution granulométrique et de pH, et

— couvrir les plages de pH suivantes quand d'autres informations donnent à penser que la dégradation ou la mobilité pourraient dépendre du pH [par exemple solubilité et taux d'hydrolyse (points 2.7 et 2.8)]:

— 4,5 à 5,5,

— 6 à 7, et

— 8 (approximativement).

Les sols utilisés doivent, dans la mesure du possible, être fraîchement prélevés. Si l'utilisation de sols stockés est inévitable, le stockage doit être effectué de manière adéquate pendant une durée limitée, dans des conditions définies et consignées. Les sols stockés pendant des périodes plus longues ne peuvent être utilisés que pour des études d'adsorption et de désorption.

Le sol sélectionné pour entamer les études ne doit pas présenter de caractéristiques extrêmes en ce qui concerne des paramètres tels que la distribution granulométrique, la teneur en carbone organique et le pH.

Les sols doivent être prélevés et manipulés conformément à la norme ISO 10381-6 (Qualité des sols — échantillonnage — guide du prélèvement, de la manipulation et du stockage des sols pour l'évaluation des processus microbiens en laboratoire). Tous les écarts doivent être rapportés et justifiés.

Les études au champ doivent être effectuées dans des conditions aussi proches que possible de la pratique agricole normale sur une gamme de types de sol et de conditions climatiques représentative de la ou des zones d'utilisation. Les conditions météorologiques doivent être indiquées dans le cas d'études au champ.

7.1.1. Voie et taux de dégradation

7.1.1.1. Voie de dégradation

Objet des essais

Les données et les informations fournies, jointes à d'autres données et informations pertinentes, doivent être suffisantes pour permettre:

- de définir, dans la mesure du possible, l'importance relative des types de processus mis en jeu (importance relative de la dégradation chimique et de la dégradation biologique),
- d'identifier les composants présents représentant constamment plus de 10 % de la quantité de substance active ajoutée, ainsi que, dans la mesure du possible, les résidus non extractibles,
- d'identifier également dans la mesure du possible les composants représentant moins de 10 % de la quantité de substance active ajoutée,
- d'établir les proportions relatives des composants (bilan massique), et
- de définir le résidu dans le sol auquel les espèces non ciblées sont exposées ou peuvent l'être.

Lorsqu'il est fait référence aux résidus non extractibles, ceux-ci sont définis comme des espèces chimiques, provenant des pesticides utilisés conformément aux bonnes pratiques agricoles, ne pouvant être extraites à l'aide de méthodes qui ne modifient pas sensiblement la nature chimique de ces résidus. Ces résidus non extractibles ne sont pas supposés inclure des fragments formés par des voies métaboliques conduisant à des produits naturels.

7.1.1.1.1. Dégradation aérobie

Situations dans lesquelles les essais sont requis

La ou les voies de dégradation doivent toujours être décrites sauf quand la nature et le mode d'utilisation des préparations contenant la substance active excluent la possibilité d'une contamination du sol comme dans le cas des emplois sur des produits stockés ou des traitements de cicatrisation pour les arbres.

Conditions d'essai

La ou les voies de dégradation doivent être décrites pour un seul sol.

Les résultats obtenus doivent être présentés sous forme de schémas où figurent les voies concernées, et sous forme de bilan présentant la distribution du marquage radioactif en fonction du temps entre:

- la substance active,
- le CO₂,
- les composés volatils autres que le CO₂,
- les produits de transformation individuels identifiés,
- les substances extractibles non identifiées, et
- les résidus non extractibles présents dans le sol.

L'étude des voies de dégradation doit comprendre toutes les opérations possibles permettant de caractériser et de quantifier les résidus non extractibles formés au bout d'une période de 100 jours quand ils dépassent 70 % de la substance active appliquée. Le choix des meilleures techniques et méthodologies à appliquer s'effectue au cas par cas. Une justification doit être fournie quand les composés concernés ne sont pas caractérisés.

La durée normale de l'étude est de 120 jours, sauf quand, au bout d'une période plus courte, les taux de résidus non extractibles et de CO₂ peuvent être extrapolés avec certitude à une période de 100 jours.

Ligne directrice des essais

SETAC – Procédure d'évaluation du devenir dans l'environnement et de l'écotoxicité des pesticides ⁽¹⁾.

7.1.1.1.2. Études complémentaires

— *Dégradation anaérobie*

Situations dans lesquelles les essais sont requis

Une étude de dégradation anaérobie doit être rapportée à moins qu'il puisse être justifié que l'exposition des produits phytopharmaceutiques contenant la substance active à des conditions anaérobies n'est pas probable.

Conditions et ligne directrice des essais

Mêmes dispositions que celles des titres correspondants au point 7.1.1.1.1.

— *Photodégradation dans le sol*

Situations dans lesquelles les essais sont requis

Une étude de photodégradation dans le sol doit être rapportée à moins qu'il ne puisse être justifié que le dépôt de la substance active à la surface du sol n'est pas probable.

Ligne directrice des essais

SETAC – Procédure d'évaluation du devenir dans l'environnement et de l'écotoxicité des pesticides.

7.1.1.2. Taux de dégradation

7.1.1.2.1. Études de laboratoire

Objet des essais

Les études de dégradation dans le sol doivent fournir les meilleures estimations possibles du temps nécessaire à la dégradation de 50 % et de 90 % (DT_{50lab} et DT_{90lab}) de la substance active, ainsi que des métabolites pertinents et des produits de réaction et de dégradation sensibles dans des conditions de laboratoire.

⁽¹⁾ Society of Environmental Toxicology and Chemistry (SETAC), 1995. *Procedure for Assessing the Environmental Fate and Ecotoxicity of Pesticides*, ISBN 90-5607-002-9.

— *Dégradation aérobie*

Situations dans lesquelles les essais sont requis

Le taux de dégradation dans le sol doit toujours être rapporté, sauf quand la nature et le mode d'utilisation des produits phytopharmaceutiques contenant la substance active excluent la possibilité d'une contamination du sol comme c'est le cas pour les emplois sur des produits stockés ou les traitements de cicatrisation des arbres.

Conditions d'essai

Le taux de dégradation aérobie de la substance active doit être relaté pour trois types de sol outre celui visé au point 7.1.1.1.1.

Dans l'attente d'un modèle de calcul validé par l'Union européenne pour l'extrapolation des taux de dégradation à basse température, une étude supplémentaire doit être effectuée à 10 °C sur l'un des sols utilisés pour l'étude de la dégradation à 20 °C afin d'étudier l'incidence de la température sur la dégradation.

La durée normale de l'étude est de 120 jours, sauf si plus de 90 % de la substance active sont dégradés avant l'expiration de cette période.

Des études similaires pour trois types de sols doivent être rapportées pour tous les métabolites pertinents et les produits de dégradation et de réaction sensibles présents dans les sols et qui représentent à tout moment de l'étude plus de 10 % de la quantité de substance active ajoutée, sauf s'il a été possible de calculer leurs valeurs de DT₅₀ à partir des résultats des études de dégradation réalisées avec la substance active.

Ligne directrice des essais

SETAC — Procédure d'évaluation du devenir dans l'environnement et de l'écotoxicité des pesticides.

— *Dégradation anaérobie*

Situations dans lesquelles les essais sont requis

Le taux de dégradation de la substance active en conditions anaérobies doit être étudié quand une étude de la dégradation anaérobie doit être effectuée conformément au point 7.1.1.1.2.

Conditions d'essai

Le taux de dégradation de la substance active en conditions anaérobies doit être étudié dans le sol utilisé pour l'étude de la dégradation anaérobie effectuée conformément au point 7.1.1.1.2.

La durée normale de l'étude est de 120 jours, sauf si plus de 90 % de la substance active sont dégradés avant l'expiration de cette période.

Des études similaires pour un type de sol doivent être relatées pour tous les métabolites pertinents et les produits de dégradation et de réaction sensibles présents dans le sol et qui représentent à tout moment de l'étude plus de 10 % de la quantité de substance active ajoutée, sauf s'il a été possible de calculer leurs valeurs de DT₅₀ à partir des résultats des études de dégradation réalisées avec la substance active.

Ligne directrice des essais

SETAC — Procédure d'évaluation du devenir dans l'environnement et de l'écotoxicité des pesticides.

7.1.1.2.2. Études au champ

— *Études de dissipation dans le sol*

Objet des essais

Les études de dissipation dans le sol doivent fournir des estimations du temps nécessaire à la dissipation de 50 % et de 90 % (DT_{50f} et DT_{90f}) de la substance active en conditions naturelles. Si nécessaire, des informations concernant les métabolites pertinents et les produits de dégradation et de réaction sensibles doivent être mentionnées.

Situations dans lesquelles les essais sont requis

Les essais doivent être effectués quand la DT_{50lab} déterminée à une température de 20 °C et avec une teneur en humidité du sol correspondant à une valeur de pF de 2 à 2,5 (succion) est supérieure à 60 jours.

Si les produits phytopharmaceutiques contenant la substance active sont destinés à une utilisation dans des conditions climatiques froides, les essais doivent être effectués quand la DT_{50lab} , déterminée à une température de 10 °C et avec une teneur en humidité du sol correspondant à une valeur de pF de 2 à 2,5 (succion) est supérieure à 90 jours.

Conditions d'essai

Les études individuelles effectuées sur une gamme de sols représentatifs (en général quatre types de sol différents) doivent être poursuivies jusqu'à ce que plus de 90 % de la quantité utilisée se soient dissipés. La durée maximale de ces études est de 24 mois.

Ligne directrice des essais

SETAC — Procédure d'évaluation du devenir dans l'environnement et de l'écotoxicité des pesticides.

— *Études des résidus dans le sol*

Objet des essais

Les études de résidus dans le sol doivent fournir des estimations des doses de résidus présentes dans le sol au moment de la récolte, ou au moment des semis ou de la plantation des cultures suivantes.

Situations dans lesquelles les essais sont requis

Les études de résidus dans le sol doivent être rapportées quand la DT_{50lab} est supérieure à un tiers de la période qui va de l'application à la récolte et quand l'absorption par la culture suivante est possible, sauf quand les résidus dans le sol au moment du semis ou de la plantation de la culture suivante peuvent être évalués avec fiabilité à partir des données fournies par les études de dissipation dans le sol ou quand il peut être justifié que ces résidus ne peuvent pas être phytotoxiques ou atteindre des teneurs inacceptables dans les rotations culturales.

Conditions d'essai

Les études doivent être poursuivies jusqu'à la récolte ou jusqu'au semis ou à la plantation des cultures suivantes, à moins que plus de 90 % de la quantité appliquée ne se soient dissipés.

Ligne directrice des essais

SETAC — Procédure d'évaluation du devenir dans l'environnement et de l'écotoxicité des pesticides.

— *Études d'accumulation dans le sol*

Objet des essais

Les essais doivent fournir des données suffisantes permettant d'évaluer la possibilité d'accumulation des résidus de la substance active, des métabolites pertinents et des produits de réaction et de dégradation sensibles.

Situations dans lesquelles les essais sont requis

Quand, sur la base des études de dissipation dans le sol, il est établi que la DT_{90f} est supérieure à un an et quand une application répétée est envisagée, au cours de la même période de végétation ou d'années successives, la possibilité d'accumulation de résidus dans le sol et le niveau auquel une concentration plateau est atteinte doivent être étudiés sauf quand des informations fiables peuvent être fournies par calcul au moyen d'un modèle ou un autre type d'évaluation approprié.

Conditions d'essai

Les études au champ de longue durée doivent être effectuées sur deux sols appropriés et comporter des applications multiples.

Avant d'effectuer ces études, le demandeur doit obtenir l'accord des autorités compétentes sur le type d'étude à effectuer.

7.1.2. Adsorption et désorption

Objet des essais

Les données et informations fournies, jointes à d'autres données et informations pertinentes, devront être suffisantes pour déterminer le coefficient d'adsorption de la substance active, des métabolites pertinents et des produits de dégradation et de réaction sensibles.

Situations dans lesquelles les essais sont requis

Les études doivent toujours être rapportées sauf quand la nature et le mode d'utilisation des préparations contenant la substance active excluent toute possibilité de contamination du sol comme dans le cas des emplois sur des produits stockés ou des traitements de cicatrisation pour les arbres.

Conditions d'essai

Les études sur la substance active doivent être rapportées pour quatre types de sol.

Pour au moins trois types de sol, des études similaires doivent être rapportées pour tous les métabolites pertinents et les produits de dégradation et de réaction sensibles qui, dans les études de dégradation dans le sol, représentent à tout moment plus de 10 % de la quantité de substance active ajoutée.

Ligne directrice des essais

Méthode OCDE 106.

7.1.3. *Mobilité dans le sol*7.1.3.1. *Études de lixiviation sur colonne**Objet des essais*

Les essais doivent fournir des données suffisantes pour évaluer la mobilité et le potentiel de lixiviation de la substance active et, si possible, des métabolites pertinents et des produits de dégradation et de réaction sensibles.

Situations dans lesquelles les essais sont requis

Les études portant sur quatre sols doivent être effectuées quand il n'est pas possible d'obtenir des valeurs fiables des coefficients d'adsorption dans les études d'adsorption et de désorption fournies par l'application du point 7.1.2.

Ligne directrice des essais

SETAC — Procédure d'évaluation du devenir dans l'environnement et de l'écotoxicité des pesticides.

7.1.3.2. *Lixiviation sur colonne de résidus vieillis**Objet des essais*

Les essais doivent fournir des données suffisantes pour estimer la mobilité et le potentiel de lixiviation des métabolites pertinents et des produits de dégradation et de réaction sensibles.

Situations dans lesquelles les essais sont requis

Les études doivent être effectuées sauf:

- quand la nature et le mode d'utilisation des préparations contenant la substance active excluent toute possibilité de contamination du sol comme dans le cas des emplois sur des produits stockés ou des traitements de cicatrisation des arbres ou
- quand une étude distincte relative aux métabolites et aux produits de dégradation ou de réaction a été effectuée conformément au point 7.1.2 ou au point 7.1.3.1.

Conditions d'essai

La ou les périodes de vieillissement doivent être déterminées sur la base d'un examen du schéma de dégradation de la substance active et des métabolites afin de garantir la présence d'un spectre pertinent de métabolites au moment de la lixiviation.

Ligne directrice des essais

SETAC — Procédure d'évaluation du devenir dans l'environnement et de l'écotoxicité des pesticides.

7.1.3.3. *Études lysimétriques ou études de lixiviation au champ**Objet des essais*

Les essais doivent fournir des données concernant:

- la mobilité dans le sol,

- le potentiel de lixiviation vers les eaux souterraines,
- la dispersion potentielle dans le sol.

Situations dans lesquelles les essais sont requis

L'avis de spécialistes sera nécessaire afin de décider si des études lysimétriques ou de lixiviation au champ doivent être effectuées compte tenu des résultats des études de dégradation et d'autres études de mobilité et des concentrations environnementales prévisibles dans les eaux souterraines (PEC_{GW}) calculées conformément à la section 9 de l'annexe du règlement (UE) n° 545/2011. Le type et les conditions de l'étude à mener doivent faire l'objet d'une discussion avec les autorités compétentes.

Conditions d'essai

La conception des dispositifs expérimentaux et des études individuelles requiert le plus grand soin afin de garantir que les résultats obtenus puissent être utilisés à des fins d'évaluation. Les études doivent notamment porter sur la situation du cas réaliste le plus défavorable compte tenu du type de sol, des conditions climatiques, de la dose d'application, et de la fréquence et de la période d'application.

Il convient d'analyser l'eau percolée au travers des colonnes de sol à intervalles appropriés et de déterminer les résidus dans les végétaux à la récolte. Les résidus contenus dans au moins cinq couches du profil de sol doivent être déterminés en fin d'essai. Il convient d'éviter les prélèvements intermédiaires d'échantillons étant donné que l'extraction de végétaux (sauf pour la récolte conformément à la pratique agricole normale) et de carottes de sol influence le processus de lixiviation.

Il convient d'effectuer des relevés de précipitations, de température du sol et de l'air à intervalles réguliers (au moins une fois par semaine).

— *Études lysimétriques*

Conditions d'essai

La profondeur minimale des lysimètres doit être de 100 cm. La profondeur maximale doit être de 130 cm. Les monolithes de sol doivent être intacts. Les températures du sol doivent être similaires aux températures du champ. Une irrigation supplémentaire doit éventuellement être pratiquée afin de garantir une croissance optimale des végétaux et une infiltration de l'eau en quantité similaire à celle des régions pour lesquelles une autorisation est demandée. Quand, au cours de l'étude, le sol doit être remanié pour des raisons agricoles, il ne doit pas l'être sur une profondeur dépassant 25 cm.

— *Études de lixiviation au champ*

Conditions d'essai

Des informations relatives au niveau piézométrique de la nappe phréatique dans les champs d'essais doivent être fournies. Si des fissurations du sol sont observées au cours de l'étude, elles doivent faire l'objet d'une description exhaustive.

Une attention particulière doit être portée au nombre et à l'emplacement des dispositifs de prélèvement de l'eau. L'installation dans le sol de ces dispositifs ne doit pas donner lieu à l'apparition de voies d'infiltration privilégiées.

Ligne directrice des essais

SETAC — Procédure d'évaluation du devenir dans l'environnement et de l'écotoxicité des pesticides.

7.2. *Devenir et comportement dans l'eau et l'air*

Objet des essais

Les informations et données fournies, jointes à celles concernant une ou plusieurs préparations contenant la substance active, ainsi que d'autres informations pertinentes, doivent être suffisantes pour permettre d'établir ou d'estimer:

- la persistance dans les systèmes aquatiques (sédiments de fond et eau, y compris les matières en suspension),
- le niveau de danger auquel l'eau, l'air et les organismes vivant dans les sédiments sont exposés,
- le potentiel de contamination des eaux de surface et des eaux souterraines.

7.2.1. Voie et taux de dégradation dans les systèmes aquatiques (autres aspects qu'au point 2.9)

Objet des essais

Les données et les informations fournies, jointes à d'autres données et informations pertinentes, doivent être suffisantes pour:

- définir l'importance relative des types de processus mis en jeu (importance relative de la dégradation chimique et de la dégradation biologique),
- identifier dans la mesure du possible les différents composés,
- établir les proportions relatives des composés présents et leur distribution entre l'eau, matières en suspension incluses, et le sédiment et
- permettre de définir les résidus auxquels les espèces non ciblées sont exposées ou peuvent l'être.

7.2.1.1. *Hydrolyse*

Situations dans lesquelles les essais sont requis

Il convient toujours d'effectuer des essais ayant pour objet les métabolites pertinents et les produits de dégradation et de réaction sensibles représentant à tout moment plus de 10 % de la quantité de substance active ajoutée sauf si l'on dispose d'informations suffisantes relatives à leur dégradation grâce aux essais effectués conformément au point 2.9.1.

Conditions et ligne directrice des essais

Mêmes dispositions qu'aux titres correspondants du point 2.9.1.

7.2.1.2. *Dégradation photochimique*

Situations dans lesquelles les essais sont requis

Les essais portant sur les métabolites pertinents et les produits de dégradation et de réaction sensibles représentant à tout moment plus de 10 % de la quantité de substance active ajoutée doivent toujours être réalisés sauf si l'on dispose d'informations suffisantes relatives à leur dégradation grâce aux essais effectués conformément aux points 2.9.2 et 2.9.3.

Conditions et ligne directrice des essais

Mêmes dispositions qu'aux titres correspondants des points 2.9.2 et 2.9.3.

7.2.1.3. *Dégradation biologique*

7.2.1.3.1. Biodégradabilité facile

Situations dans lesquelles les essais sont requis

Les essais doivent toujours être réalisés sauf s'ils ne sont pas exigés en application de l'annexe I, partie 4, du règlement (CE) n° 1272/2008.

Ligne directrice des essais

Méthode C 4 du règlement (CE) n° 440/2008.

7.2.1.3.2. Étude de système eau-sédiment

Situations dans lesquelles les essais sont requis

Les essais doivent toujours être rapportés sauf s'il peut être justifié qu'aucune contamination des eaux de surface n'est possible.

Ligne directrice des essais

SETAC — Procédure d'évaluation du devenir dans l'environnement et de l'écotoxicité des pesticides.

7.2.1.4. *Dégradation dans la zone saturée*

Situations dans lesquelles les essais sont requis

Les taux de transformation, dans la zone saturée, des substances actives, des métabolites pertinents et des produits de dégradation et de réaction sensibles peuvent fournir des informations utiles sur le devenir de ces substances dans les eaux souterraines.

Conditions d'essai

L'avis de spécialistes est requis pour déterminer si ces informations sont nécessaires. Avant d'effectuer ces études, le demandeur doit obtenir l'accord des autorités compétentes sur le type d'étude à effectuer.

7.2.2. Voie et taux de dégradation dans l'air (autres aspects qu'au point 2.10)

Les lignes directrices adéquates sont contenues dans le rapport préparé par le groupe de travail de Focus sur les pesticides dans l'atmosphère ⁽¹⁾: Les pesticides dans l'atmosphère: considérations sur l'évaluation de l'exposition, «Pesticides In Air: Considerations For Exposure Assessment» (2008).

7.3. Définition du résidu

En fonction de la composition chimique des résidus présents dans le sol, l'eau ou l'air du fait de l'utilisation ou de l'utilisation proposée d'un produit phytopharmaceutique contenant la substance active, il convient de faire une proposition de définition du résidu tenant compte à la fois des teneurs relevées et de leur incidence toxicologique et environnementale.

7.4. Données de surveillance

Les données de surveillance disponibles concernant le devenir et le comportement de la substance active, des métabolites pertinents et des produits de dégradation et de réaction sensibles doivent être rapportées.

8. Études écotoxicologiques

Introduction

- i) Les informations fournies, jointes à celles qui concernent une ou plusieurs préparations contenant la substance active, doivent être suffisantes pour permettre d'évaluer l'incidence sur les espèces non ciblées (flore et faune) dont l'exposition à la substance active, à ses métabolites et à ses produits de dégradation et de réaction peut être dangereuse, lorsque ces espèces ont une importance pour l'environnement. Cette incidence peut être due à une exposition unique, prolongée ou répétée et peut être réversible ou irréversible.
- ii) En particulier, les informations fournies relatives à la substance active, jointes à d'autres informations pertinentes, ainsi que celles concernant une ou plusieurs préparations contenant la substance active, doivent être suffisantes pour:
 - permettre une décision quant à l'approbation éventuelle de la substance active,
 - fixer les conditions ou restrictions appropriées liées à toute approbation,
 - permettre une évaluation des risques à court terme comme à long terme pour les espèces non visées (populations, communautés et processus, selon le cas),
 - classer la substance active en fonction du danger,
 - préciser les précautions à prendre pour protéger les espèces non ciblées, et
 - fixer les pictogrammes, les mentions d'avertissements et les mentions de danger et conseils de prudence appropriés pour la protection de l'environnement, à faire figurer sur l'emballage (récipients).
- iii) Il est nécessaire de faire état de tous les effets potentiellement nocifs constatés au cours des investigations écotoxicologiques de routine et de réaliser et rapporter, si les autorités compétentes le demandent, les études complémentaires éventuellement nécessaires pour déceler les mécanismes susceptibles d'être en cause et évaluer l'ampleur de ces effets. Il est indispensable de rapporter toutes les données et informations biologiques disponibles concourant à l'évaluation du profil écotoxicologique de la substance active.
- iv) Les informations sur le devenir et le comportement dans l'environnement, établies et présentées conformément aux points 7.1 à 7.4, et sur les teneurs en résidus des végétaux, établies et présentées conformément à la section 6, sont essentielles pour l'évaluation de l'incidence sur les espèces non ciblées, car, jointes aux informations sur la nature de la préparation et son mode d'emploi, elles définissent la nature et l'ampleur de l'exposition potentielle. Les études et les informations toxicocinétiques et toxicologiques présentées conformément aux points 5.1 et 5.8 fournissent des données essentielles sur la toxicité pour les vertébrés et les mécanismes en cause.

⁽¹⁾ FORum for the Co-ordination of pesticide fate models and theirUSse (FOCUS).

- v) S'il y a lieu, des essais doivent être mis au point et les données obtenues analysées à l'aide de méthodes statistiques appropriées. Les analyses statistiques doivent être rapportées de manière circonstanciée (par exemple, toutes les estimations ponctuelles doivent être délimitées par un intervalle de confiance et il y a lieu de fournir les valeurs de probabilité exactes plutôt que d'utiliser la mention «significatif/non significatif»).

Substance d'essai

- vi) Une description détaillée (spécification) du matériel utilisé, mentionnée au point 1.11, doit être fournie. Lorsque les essais sont effectués au moyen de la substance active, le matériel utilisé doit répondre aux spécifications qui seront retenues dans la fabrication des préparations à autoriser, sauf en cas d'utilisation de produit radiomarqué.
- vii) Si des études sont effectuées avec une substance active produite en laboratoire ou dans un système de production pilote, elles doivent être répétées avec la substance active technique, sauf s'il peut être prouvé que la substance d'essai utilisée est fondamentalement la même aux fins des essais et de l'évaluation écotoxicologiques. En cas de doute, il y a lieu de présenter des études de recoupement appropriées permettant de trancher quant à l'éventuelle nécessité de répéter les études.
- viii) Dans le cas d'études dans lesquelles le dosage s'étend sur une période, le dosage doit être fait de préférence avec un seul lot de substance active, si la stabilité le permet.

Si une étude comporte l'utilisation de doses différentes, la relation entre la dose et l'effet nocif doit être consignée.

- ix) Dans toutes les études d'alimentation, il y a lieu d'indiquer la dose moyenne administrée, voire, si possible, la dose en mg/kg de masse corporelle. Lorsque l'administration s'effectue par les rations alimentaires, le composé d'essai doit y être distribué uniformément.
- x) Des études séparées sur les métabolites, les produits de dégradation ou de réaction peuvent s'imposer lorsque ces produits peuvent présenter un risque non négligeable pour les organismes non ciblés et que les résultats des études portant sur la substance active ne permettent pas d'évaluer leurs effets. Avant de procéder à ces études, il convient de tenir compte des informations obtenues au titre des sections 5, 6 et 7.

Organismes d'essai

- xi) Pour faciliter l'évaluation de la signification des résultats obtenus, y compris l'estimation de la toxicité intrinsèque et des facteurs influençant la toxicité, il faut utiliser, dans la mesure du possible, des individus appartenant à la même souche ou à la même origine certifiée de l'espèce faisant l'objet des différents essais de toxicité.

8.1. *Effets sur les oiseaux*

8.1.1. *Toxicité orale aiguë*

Objet des essais

Dans la mesure du possible, les essais doivent permettre d'établir les valeurs de la DL₅₀, la dose seuil létale, les temps de réponse et de récupération et la DSEO, et faire état des observations macropathologiques significatives à l'autopsie.

Situations dans lesquelles les essais sont requis

Il est indispensable de rechercher les effets éventuels de la substance active sur les oiseaux, sauf dans les cas où la substance active est destinée exclusivement à l'incorporation dans des préparations à utiliser uniquement dans des espaces clos (tels que des serres ou des entrepôts de denrées alimentaires).

Conditions d'essai

La toxicité orale aiguë de la substance active pour une espèce de caille [la caille japonaise (*Coturnix coturnix japonica*) ou le colin de Virginie (*Colinus virginianus*)] ou pour le canard colvert (*Anas platyrhynchos*) doit être déterminée. La dose maximale utilisée dans les essais ne dépassera pas 2 000 mg/kg de masse corporelle.

Ligne directrice des essais

SETAC — Procédure d'évaluation du devenir dans l'environnement et de l'écotoxicité des pesticides.

8.1.2. Toxicité alimentaire à court terme

Objet des essais

Les essais doivent permettre d'établir la toxicité alimentaire à court terme (valeurs de la CL_{50} , concentration létale minimale, si possible les concentrations sans effet observé — CSEO — et les temps de réponse et de récupération) et faire état des observations macropathologiques significatives à l'autopsie.

Situations dans lesquelles les essais sont requis

La toxicité alimentaire (cinq jours) de la substance active pour les oiseaux doit toujours être vérifiée sur une seule espèce, sauf lorsqu'il est fait état d'une étude réalisée conformément au point 8.1.3. Lorsque la DSEO orale aiguë est ≤ 500 mg/kg de masse corporelle ou lorsque la CSEO à court terme est < 500 mg/kg d'aliment, les essais doivent être répétés sur une deuxième espèce.

Conditions d'essai

La première espèce étudiée doit être la caille ou le canard colvert. Si une deuxième espèce doit être soumise aux essais, elle ne peut être apparentée à la première.

Ligne directrice des essais

Les essais doivent être effectués en conformité avec la méthode 205 de l'OCDE.

8.1.3. Toxicité subchronique et de reproduction

Objet des essais

Les essais doivent permettre d'établir la toxicité subchronique de la substance active pour les oiseaux ainsi que la toxicité pour leur reproduction.

Situations dans lesquelles les essais sont requis

Il est obligatoire de déterminer la toxicité subchronique ou de reproduction de la substance active pour les oiseaux, sauf s'il est prouvé que l'exposition continue ou répétée des adultes ou l'exposition des sites de nidification pendant la période de reproduction est improbable.

Ligne directrice des essais

Les essais doivent être effectués conformément à la méthode 206 de l'OCDE.

8.2. Effets sur les organismes aquatiques

Les données des essais visés aux points 8.2.1, 8.2.4 et 8.2.6 doivent être soumises pour toutes les substances actives, même si les produits phytopharmaceutiques qui la contiennent ne devraient pas pouvoir atteindre les eaux de surface dans les conditions d'emploi proposées. Ces données sont requises en vertu de l'annexe I, partie 4, du règlement (CE) n° 1272/2008.

Les données rapportées doivent être étayées par des données analytiques sur les concentrations de la substance d'essai dans les milieux d'essai.

8.2.1. Toxicité aiguë pour les poissons

Objet des essais

Les essais doivent permettre d'établir la toxicité aiguë (CL_{50}) et exposer les détails des effets observés.

Situations dans lesquelles les essais sont requis

Les essais doivent toujours être réalisés.

Conditions d'essai

La toxicité aiguë de la substance active doit être déterminée pour la truite arc-en-ciel (*Oncorhynchus mykiss*) et pour une espèce de poisson des eaux chaudes. Lorsque des essais doivent être effectués sur les métabolites ou les produits de dégradation ou de réaction, l'espèce la plus sensible dans l'essai d'exposition à la substance active doit être retenue.

Ligne directrice des essais

Les essais doivent être réalisés conformément à l'annexe du règlement (CE) n° 440/2008, méthode C 1.

8.2.2. Toxicité chronique pour les poissons.

Situations dans lesquelles les essais sont requis

Une étude de toxicité chronique doit toujours être effectuée, sauf s'il est prouvé que l'exposition continue ou répétée des poissons est improbable ou que l'on dispose d'une étude adéquate du microcosme ou du mésocosme.

L'avis de spécialistes est nécessaire pour décider des essais à effectuer. En particulier, lorsqu'il s'agit d'une substance active à risques (liés à sa toxicité pour le poisson ou à l'exposition potentielle), le demandeur doit soumettre le type d'essai à effectuer à l'agrément des autorités compétentes.

Un essai de toxicité pour les poissons dans les premières phases de la vie peut être approprié lorsque les facteurs de bioconcentration (FBC) sont compris entre 100 et 1 000 ou que la CE_{50} de la substance active est $< 0,1$ mg/l.

Un essai du cycle biologique des poissons peut être approprié:

— lorsque le FBC est supérieur à 1 000 et que l'élimination de la substance active au cours d'une phase d'épuration de 14 jours est inférieure à 95 %, ou

— lorsque la substance est stable dans l'eau ou dans le sédiment ($DT_{90} > 100$ jours).

Les poissons juvéniles ne doivent pas faire l'objet d'essais de toxicité chronique si un essai de toxicité sur les premières phases de la vie ou un essai sur le cycle biologique ont été effectués; de même, il n'est pas nécessaire de procéder à un essai de toxicité sur les premières phases de la vie si un essai sur le cycle biologique a été effectué.

8.2.2.1. Essai de toxicité chronique pour les poissons juvéniles

Objet des essais

Les essais doivent permettre d'établir les effets sur la croissance, le niveau seuil des effets létaux ou des effets observés, la CSEO et les détails des effets observés.

Conditions d'essai

Les essais doivent être pratiqués sur la truite arc-en-ciel juvénile, après une exposition de 28 jours à la substance active. Il doit fournir des informations sur les effets sur la croissance et le comportement.

8.2.2.2. Essai de toxicité pour les poissons dans les premières phases de la vie

Objet des essais

Les essais doivent permettre d'établir les effets sur le développement, la croissance et le comportement, la CSEO et les détails des effets observés sur les premières phases de la vie des poissons.

Ligne directrice des essais

Les essais doivent être effectués en conformité avec la méthode 210 de l'OCDE.

8.2.2.3. Essai sur le cycle biologique des poissons

Objet des essais

Les essais permettront d'établir les effets sur la reproduction des générations parentales et sur la viabilité des générations de descendants.

Conditions d'essai

Le demandeur doit solliciter au préalable l'agrément des autorités compétentes sur la nature et les conditions de l'essai à effectuer.

8.2.3. Bioconcentration chez le poisson

Objet des essais

Les essais doivent permettre d'établir les FBC à l'état stationnaire, les constantes des taux d'accumulation et des taux d'élimination, calculés pour chaque substance d'essai, ainsi que les limites de confiance correspondantes.

Situations dans lesquelles les essais sont requis

Le potentiel de bioconcentration des substances actives, des métabolites et des produits de dégradation ou de réaction susceptibles de se répartir dans les tissus adipeux (tel que $\log P_{OE} \geq 3$ — voir point 2.8 ou d'autres indications relatives à la bioconcentration), doivent être déterminés et rapportés, à moins qu'il ne soit prouvé qu'une exposition entraînant une bioconcentration est improbable.

Ligne directrice des essais

Les essais doivent être effectués conformément à la méthode 305 E de l'OCDE.

8.2.4. Toxicité aiguë pour les invertébrés aquatiques

Objet des essais

L'essai doit permettre d'établir la toxicité aiguë à 24 et 48 heures de la substance active, exprimée sous forme de concentration médiane effective (CE_{50}) provoquant l'immobilisation et, si possible, la concentration la plus élevée ne provoquant pas d'immobilisation.

Situations dans lesquelles les essais sont requis

La toxicité aiguë doit toujours être déterminée pour les *Daphnia* (de préférence sur *Daphnia magna*). Lorsque des produits phytopharmaceutiques contenant la substance active doivent être utilisés directement dans ou sur des eaux de surface, des données complémentaires doivent être communiquées au sujet d'au moins une espèce représentative de chacun des groupes suivants: insectes aquatiques, crustacés aquatiques (d'une espèce non apparentée aux *Daphnia*) et mollusques gastéropodes aquatiques.

Ligne directrice des essais

Les essais doivent être réalisés conformément à l'annexe du règlement (CE) n° 440/2008, méthode C 2.

8.2.5. Toxicité chronique pour les invertébrés aquatiques

Objet des essais

Les essais doivent permettre d'établir, si possible, les valeurs de la CE_{50} concernant des effets tels que l'immobilisation et la reproduction ainsi que la concentration la plus élevée n'ayant aucun effet sur la mortalité ou la reproduction (CSEO) et les détails des effets observés.

Situations dans lesquelles les essais sont requis

Les essais sur des *Daphnia* et sur au moins une espèce représentative d'insecte aquatique et de mollusque gastéropode aquatique est obligatoire à moins qu'il ne soit prouvé qu'une exposition continue ou répétée est improbable.

Conditions d'essai

Les essais sur les *Daphnia* doivent avoir une durée de 21 jours.

Ligne directrice des essais

Les essais doivent être effectués conformément à la méthode 202, partie II, de l'OCDE.

8.2.6. Effets sur la croissance des algues

Objet des essais

Les essais devraient permettre d'établir les valeurs des CE_{50} relatives à la croissance et au taux de croissance, les valeurs de la CSEO et les détails des effets observés.

Situations dans lesquelles les essais sont requis

Les effets éventuels de la substance active sur la croissance des algues doivent toujours être consignés.

Pour les herbicides, des essais doivent être pratiqués sur une seconde espèce d'un autre groupe taxinomique.

Ligne directrice des essais

Les essais doivent être réalisés conformément à l'annexe du règlement (CE) n° 440/2008, méthode C 3.

8.2.7. Effets sur les organismes vivant dans les sédiments

Objet des essais

Les essais permettront de mesurer les effets sur la survie et le développement (y compris les effets sur la sortie des adultes de l'espèce *Chironomus*), les valeurs des CE₅₀ correspondantes et les valeurs des CSEO.

Situations dans lesquelles les essais sont requis

Lorsqu'il ressort des données sur le devenir et le comportement dans l'environnement prescrites à la section 7 qu'une substance active risque de se répartir et de persister dans les sédiments aquatiques, l'avis de spécialistes est nécessaire pour décider s'il faut réaliser des essais de toxicité aiguë ou chronique dans les sédiments. Cet avis devra établir la probabilité des effets sur les invertébrés vivant dans les sédiments par une comparaison des valeurs des CE₅₀ relatives à la toxicité pour les invertébrés aquatiques visées aux points 8.2.4 et 8.2.5 avec les doses de substance active dans les sédiments prévues à partir des données visées à la section 9 de l'annexe du règlement (UE) n° 545/2011.

Conditions d'essai

Le demandeur doit solliciter au préalable l'agrément des autorités compétentes sur la nature et les conditions des essais à effectuer.

8.2.8. Plantes aquatiques

Des essais doivent être effectués sur les plantes aquatiques pour les herbicides.

Le demandeur doit solliciter au préalable l'agrément des autorités compétentes sur la nature et les conditions des essais à effectuer.

8.3. Effets sur les arthropodes

8.3.1. Abeilles

8.3.1.1. Toxicité aiguë

Objet des essais

Les essais doivent permettre d'établir la valeur de la DL₅₀ de la substance active concernant la toxicité aiguë par voie orale et par contact.

Situations dans lesquelles les essais sont requis

La détermination de l'incidence potentielle sur les abeilles est obligatoire, sauf lorsque les préparations contenant la substance active sont exclusivement destinées à être utilisées dans des situations où l'exposition des abeilles est improbable, à savoir:

- l'entreposage des denrées alimentaires en espace clos,
- les traitements non systémiques des semences,
- les préparations non systémiques pour l'épandage sur le sol,
- les traitements non systémiques par trempage des plants et bulbes repiqués,
- les traitements des plaies et des blessures,
- les appâts rodenticides,
- l'emploi en serre sans pollinisateur.

Ligne directrice des essais

Les essais doivent être effectués en conformité avec la norme n° 170 de l'OEPP.

8.3.1.2. Essais d'alimentation du couvain d'abeilles

Objet des essais

Les essais doivent permettre d'obtenir des informations suffisantes pour évaluer les risques éventuels que présente le produit phytopharmaceutique pour les larves d'abeilles.

Situations dans lesquelles les essais sont requis

Les essais doivent être réalisés lorsque la substance active peut agir comme régulateur de la croissance des insectes, sauf s'il est établi que l'exposition du couvain d'abeilles est improbable.

Ligne directrice des essais

Les essais doivent être réalisés en conformité avec la méthode de l'ICPBR (par exemple: P. A. Oomen, A. de Riuiter et J. van der Steen, «*Method for honeybee brood feeding tests with insect growth-regulating insecticides*» *Bulletin OEPP*, volume 22, 1992, p. 613-616).

8.3.2. Autres arthropodes

Objet des essais

Les essais doivent permettre d'obtenir des informations suffisantes pour évaluer la toxicité (mortalité et effets sublétaux) de la substance active pour certaines espèces d'arthropodes.

Situations dans lesquelles les essais sont requis

Il est obligatoire de déterminer les effets sur les arthropodes terrestres non ciblés (par exemple, les prédateurs ou les parasitoïdes des organismes nuisibles). Les renseignements obtenus pour ces espèces peuvent également être utilisés pour indiquer la toxicité potentielle à l'égard d'autres espèces non ciblées vivant dans le même environnement. Ces informations sont exigées pour toutes les substances actives, sauf lorsque les préparations contenant la substance active sont destinées exclusivement à être utilisées dans des situations où les arthropodes non ciblés ne sont pas exposés, à savoir:

- l'entreposage des denrées alimentaires en espace clos,
- les traitements des plaies et des blessures,
- les appâts rodenticides.

Conditions d'essai

Les essais doivent d'abord être réalisés en laboratoire sur substrat artificiel (par exemple, plaque de verre ou sable de quartz, selon le cas), sauf si d'autres études révèlent la probabilité d'effets néfastes. Dans ce cas, des substrats plus adaptés peuvent être utilisés.

Deux espèces types sensibles, un parasitoïde et un acarien prédateur (par exemple, *Aphidius rhopalosiphii* et *Typhlodromus pyri*), doivent être soumises aux essais. À celles-là s'ajouteront deux espèces supplémentaires, qui doivent être appropriées à l'utilisation prévue de la substance. Dans la mesure du possible et s'il y a lieu, elles doivent représenter les deux autres grands groupes fonctionnels en cause: les prédateurs vivant dans le sol et les prédateurs vivant dans le feuillage. Si des effets sont observés sur des espèces concernées par l'utilisation envisagée pour le produit, d'autres essais peuvent être effectués à grande échelle en laboratoire ou en condition semi-naturelle. La sélection des espèces à soumettre aux essais doit être conforme aux propositions formulées dans les lignes directrices de la SETAC sur les procédures d'essai réglementaires des pesticides pour les arthropodes non ciblés⁽¹⁾. Les essais utiliseront des doses équivalentes à la dose la plus élevée recommandée pour l'application au champ.

Ligne directrice des essais

Les essais qui s'imposent doivent être réalisés en conformité avec des lignes directrices appropriées qui répondent au moins aux exigences d'essai formulées dans les lignes directrices de la SETAC sur les procédures d'essai réglementaires des pesticides pour les arthropodes non ciblés.

8.4. Effets sur les vers de terre

8.4.1. Toxicité aiguë

Objet des essais

Les essais doivent permettre d'établir la valeur de la CL₅₀ de la substance active à l'égard des vers de terre et, dans la mesure du possible, la concentration la plus élevée ne provoquant pas de mortalité et la concentration la plus faible provoquant 100 % de mortalité, et permettre de déterminer les effets observés sur la morphologie et le comportement.

⁽¹⁾ Découlant de l'atelier *European Standard Characteristics of beneficial Regulatory Testing (ESCORT)*, 28-30 mars 1994, ISBN 0-95-22535-2-6.

Situations dans lesquelles les essais sont requis

La détermination des effets sur les vers de terre est obligatoire lorsque les préparations contenant la substance active sont appliquées sur le sol ou sont susceptibles de contaminer le sol.

Ligne directrice des essais

Les essais doivent être réalisés conformément à l'annexe du règlement (CE) n° 440/2008, méthode C 8, toxicité pour les vers de terre: essai sur sol artificiel.

8.4.2. Effets sublétaux

Objet des essais

Les essais doivent permettre d'établir la CSEO et les effets sur la croissance, la reproduction et le comportement.

Situations dans lesquelles les essais sont requis

Lorsque l'exposition continue ou répétée des vers de terre à la substance active ou à des quantités significatives de métabolites, de produits de dégradation ou de réaction est prévisible, sur la base du mode d'emploi proposé pour les préparations contenant la substance active ou sur la base du devenir et du comportement de celle-ci dans le sol ($DT_{90} > 100$ jours), un avis de spécialistes est nécessaire pour décider si la détermination des effets sublétaux est utile.

Conditions d'essai

Les essais doivent être réalisés sur *Eisenia fetida*.

8.5. Effets sur les micro-organismes non ciblés du sol

Objet des essais

Les essais doivent permettre d'obtenir des données suffisantes pour évaluer l'incidence de la substance active sur l'activité microbienne du sol, traduite par la transformation de l'azote et la minéralisation du carbone.

Situations dans lesquelles les essais sont requis

Les essais sont obligatoires lorsque les préparations contenant la substance active sont appliquées sur le sol ou sont susceptibles de contaminer le sol dans les conditions d'utilisation courante. Dans le cas des substances actives destinées à être utilisées dans des préparations servant à la stérilisation des sols, les études doivent avoir pour objet la détermination des taux de récupération après traitement.

Conditions d'essai

Les sols utilisés doivent être des sols agricoles fraîchement prélevés. Les sites dont ils proviennent ne doivent pas avoir été traités au cours des deux années précédentes par des substances pouvant modifier considérablement la diversité et le niveau des populations microbiennes présentes, sinon de manière transitoire.

Ligne directrice des essais

SETAC — Procédures d'évaluation du devenir dans l'environnement et de l'écotoxicité des pesticides.

8.6. Effets sur d'autres organismes non ciblés (flore et faune) supposés être exposés à un risque

Un résumé des données produites par les essais préliminaires pratiqués afin d'évaluer l'activité biologique et le dosage, qu'elles soient positives ou négatives, de nature à fournir des renseignements sur l'incidence éventuelle sur d'autres espèces non ciblées (flore et faune) doit être fourni et accompagné d'un avis critique sur la pertinence d'une incidence potentielle sur les espèces non ciblées.

8.7. Effets sur les méthodes biologiques de traitement des eaux usées

Il est obligatoire de déterminer et de consigner les effets sur les méthodes biologiques de traitement des eaux usées lorsque l'utilisation de produits phytopharmaceutiques contenant la substance active peut avoir des effets néfastes sur les installations de traitement des eaux usées.

9. Résumé et évaluation des sections 7 et 8

10. Propositions comportant une justification des propositions de classification et d'étiquetage de la substance active, conformément au règlement (CE) n° 1272/2008:

— pictogramme(s),

- mentions d'avertissement,
- mentions de danger,
- conseils de prudence.

11. **Le dossier visé à l'annexe, partie A, du règlement (UE) n° 545/2011, établi pour un produit phyto-pharmaceutique représentatif.**

PARTIE B

MICRO-ORGANISMES, Y COMPRIS LES VIRUS

Introduction

- i) Les substances actives sont définies à l'article 2, paragraphe 2, du règlement (CE) n° 1107/2009; elles incluent les substances chimiques et les micro-organismes, y compris les virus.

La présente partie énonce les informations requises pour les substances actives constituées de micro-organismes, y compris les virus.

La définition du terme «micro-organisme» figurant à l'article 3 du règlement (CE) n° 1107/2009 s'applique, notamment mais pas exclusivement, aux bactéries, aux champignons, aux protozoaires, aux virus et aux viroïdes.

- ii) Toute demande concernant des micro-organismes doit être accompagnée de toutes les informations et de toute la documentation pertinentes disponibles en l'état actuel des connaissances.

Les informations les plus importantes et les plus utiles sont fournies par la caractérisation et l'identification du micro-organisme. Les informations de ce type sont définies dans les sections 1, 2 et 3 (identité, propriétés biologiques, informations complémentaires). Elles constituent la base de l'évaluation des effets du micro-organisme sur la santé humaine et sur l'environnement.

Des données récentes issues d'expérimentations toxicologiques et/ou pathologiques classiques sur des animaux de laboratoire sont normalement exigées, sauf si le demandeur est en mesure de démontrer, sur la base des informations précédemment fournies, que l'utilisation du micro-organisme, dans les conditions proposées, n'a aucun effet nocif sur la santé humaine ou animale, ni sur les eaux souterraines, et n'a aucune incidence inacceptable sur l'environnement.

- iii) Dans l'attente de l'adoption de lignes directrices spécifiques au niveau international, les informations requises doivent être obtenues par application de lignes directrices d'essai existantes agréées par l'autorité compétente [comme celles de l'Agence de protection de l'environnement (EPA) des États-Unis⁽¹⁾, par exemple]; le cas échéant, il y a lieu d'adapter les lignes directrices décrites dans la partie A de la présente annexe pour qu'elles puissent convenir aux micro-organismes. Les essais doivent porter sur des micro-organismes viables et, le cas échéant, non viables et comporter un contrôle à blanc.

- iv) Pour les essais effectués, une description détaillée (spécification) du matériel utilisé et des impuretés qu'il contient doit être fournie, conformément aux dispositions du point 1.4. Le matériel utilisé doit correspondre à la spécification définie pour la fabrication des préparations à autoriser.

Si des études sont effectuées avec des micro-organismes obtenus en laboratoire ou dans une installation pilote, elles doivent être répétées avec des micro-organismes techniques, sauf s'il peut être démontré que le matériel utilisé est essentiellement le même aux fins des essais et des évaluations.

- v) Dans le cas de micro-organismes génétiquement modifiés, une copie de l'évaluation des données relatives à l'évaluation des risques pour l'environnement doit être fournie, comme prévu à l'article 48 du règlement (CE) n° 1107/2009.

- vi) Le cas échéant, les données doivent être analysées à l'aide de méthodes statistiques appropriées. Les analyses statistiques doivent être rapportées de manière exhaustive (par exemple, toutes les estimations ponctuelles doivent être délimitées par un intervalle de confiance et il y a lieu de fournir les valeurs de probabilité exactes plutôt que d'utiliser la mention «significatif/non significatif»).

⁽¹⁾ USEPA, *Microbial pesticide test guidelines*, OPPTS Series 885, février 1996.

- vii) Dans le cas des études prévoyant une administration prolongée sur une certaine période, l'administration doit être effectuée de préférence au moyen d'un seul lot de micro-organismes, si la stabilité de celui-ci le permet.

Si les études ne sont pas réalisées au moyen d'un lot unique de micro-organismes, il convient de certifier la similarité des différents lots utilisés.

Si une étude comporte l'utilisation de doses différentes, la relation entre la dose et l'effet néfaste doit être rapportée.

- viii) S'il est acquis que l'action de protection phytosanitaire est due à l'effet résiduel d'une toxine ou d'un métabolite, ou s'il faut s'attendre à la présence, en quantités significatives, de résidus de toxines ou de métabolites non liés à l'effet de la substance active, ces toxines ou ces métabolites doivent faire l'objet d'un dossier constitué conformément aux prescriptions de la partie A de la présente annexe.

1. Identité du micro-organisme

L'identification ainsi que la caractérisation du micro-organisme fournissent les informations les plus importantes et constituent un élément clé de la prise de décision.

1.1. Demandeur

Le nom et l'adresse du demandeur doivent être donnés, tout comme le nom, la qualité, les numéros de téléphone et de télécopieur de la personne de contact.

Lorsque, en outre, le demandeur a un bureau, un agent ou un représentant dans l'État membre auquel la demande d'approbation est présentée et, s'il est différent, dans l'État membre rapporteur nommé par la Commission, le nom et l'adresse du bureau, de l'agent ou du représentant local doivent être indiqués, ainsi que le nom, la qualité, les numéros de téléphone et de télécopieur de la personne de contact.

1.2. Producteur

Le nom et l'adresse du ou des producteurs du micro-organisme doivent être fournis, de même que le nom et l'adresse de chaque unité assurant la production du micro-organisme. Un point de contact (de préférence central, avec nom, numéro de téléphone et numéro de télécopieur) doit être indiqué, auquel seront envoyées les données d'actualisation et où il sera répondu aux questions concernant la technologie de production, les procédés et la qualité du produit (y compris, le cas échéant, en ce qui concerne les lots individuels). Si le lieu de production ou le nombre de producteurs est modifié après l'approbation du micro-organisme, les informations requises doivent être à nouveau notifiées à la Commission et aux États membres.

1.3. Nom et description de l'espèce, caractérisation de la souche

- i) Le micro-organisme doit être déposé auprès d'une collection de cultures de réputation internationale; le numéro de dépôt correspondant et les coordonnées de l'institution doivent être indiqués.
- ii) Chacun des micro-organismes visés par la demande doit être identifié et désigné par son nom d'espèce. Le nom scientifique et la classification taxinomique en famille, genre, espèce, souche, sérotype, pathovar ou toute autre dénomination pertinente de chaque micro-organisme doivent être indiqués.

Il doit être précisé si le micro-organisme:

- est indigène ou non indigène, au niveau de l'espèce, de la zone d'application envisagée,
- est une souche sauvage,
- est un mutant spontané ou induit,
- a été modifié au moyen de techniques décrites dans l'annexe IA, partie 2, et l'annexe IB, de la directive 2001/18/CE du Parlement européen et du Conseil ⁽¹⁾.

⁽¹⁾ JO L 106 du 17.4.2001, p. 1.

Dans ces deux derniers cas, toutes les différences connues entre le micro-organisme modifié et la souche sauvage initiale doivent être indiquées.

- iii) La technologie la plus avancée disponible doit être utilisée pour identifier et caractériser le micro-organisme au niveau de la souche. Les procédures d'essai et critères appropriés utilisés pour l'identification (par exemple, morphologie, biochimie, sérologie, identification moléculaire) doivent être indiqués.
- iv) Le nom commun, ainsi que, le cas échéant, tout nom supplémentaire, de remplacement ou de code utilisés lors de la phase de développement doivent être indiqués.
- v) Toute parenté avec des pathogènes connus doit être indiquée.

1.4. Spécification du matériel utilisé pour la fabrication de produits formulés

1.4.1. Teneur en micro-organisme

La teneur minimale et maximale en micro-organisme du matériel utilisé pour la fabrication des produits formulés doit être indiquée, et ce en termes appropriés, tels que le nombre d'unités actives par unité de volume ou de masse, ou de toute autre manière adéquate pour le micro-organisme considéré.

Lorsque les informations fournies concernent un système de production pilote, les informations requises doivent être à nouveau fournies à la Commission et aux États membres lorsque les méthodes et procédures de production à l'échelle industrielle se sont stabilisées et si les changements intervenus dans la production modifient la spécification de la pureté.

1.4.2. Identité et teneur en impuretés, en additifs et en micro-organismes contaminants

Dans toute la mesure du possible, il est souhaitable que les produits phytopharmaceutiques soient exempts de contaminants (y compris les micro-organismes contaminants). La teneur et la nature des contaminants acceptables doivent être établies par l'autorité compétente sur la base d'une évaluation des risques.

Dans la mesure du possible et le cas échéant, l'identité et la teneur maximale, exprimée dans l'unité appropriée, de tous les micro-organismes contaminants doivent être indiquées. Chaque fois que possible, les données relatives à l'identité doivent être fournies conformément aux exigences de la présente annexe, partie B, point 1.3.

Tout métabolite pertinent (c'est-à-dire susceptible d'être préoccupant pour la santé humaine ou pour l'environnement) connu pour être produit par le micro-organisme doit être identifié et caractérisé à différents états ou stades de la croissance du micro-organisme [voir la présente introduction, point viii)].

S'il y a lieu, des informations détaillées doivent être fournies sur tous les composants tels que les condensats, milieux de culture, etc.

En ce qui concerne les impuretés chimiques sensibles pour la santé humaine ou pour l'environnement, leur identité et leur teneur maximale, exprimée dans l'unité appropriée, doivent être indiquées.

En ce qui concerne les additifs, leur identité et leur teneur, exprimée en grammes par kilogramme, doivent être indiquées.

Les données relatives à l'identité des substances chimiques telles que les additifs doivent être fournies conformément aux dispositions de la présente annexe, partie A, point 1.10.

1.4.3. Profil analytique des lots

S'il y a lieu, les données visées dans la présente annexe, partie A, point 1.11, doivent être fournies dans les unités appropriées.

2. Propriétés biologiques du micro-organisme

2.1. Historique du micro-organisme et de ses utilisations — présence naturelle et répartition géographique

La familiarité du micro-organisme, c'est-à-dire la disponibilité de connaissances appropriées le concernant, doit être présentée.

2.1.1. Évolution historique

L'historique du micro-organisme et de ses utilisations (expériences et projets de recherche ou utilisations commerciales) doit être présenté.

2.1.2. Origine et présence naturelle

La région géographique et la situation dans l'écosystème (par exemple le végétal ou l'animal hôte, ou encore le sol dans lequel le micro-organisme a été isolé) doivent être indiquées, et le mode d'isolement utilisé doit être précisé. La présence naturelle du micro-organisme dans l'environnement concerné doit être indiquée, si possible, au niveau de la souche.

Dans le cas d'un micro-organisme mutant ou génétiquement modifié, une description détaillée du mode de production et d'isolement, ainsi que des moyens permettant de le distinguer clairement de la souche sauvage initiale, doit être fournie.

2.2. Informations sur le ou les organismes ciblés

2.2.1. Description du ou des organismes ciblés

Le cas échéant, les organismes nuisibles contre lesquels une protection est assurée doivent être spécifiés.

2.2.2. Mode d'action

Le mode d'action principal doit être indiqué. En liaison avec celui-ci, il doit également être précisé si le micro-organisme produit une toxine ayant un effet résiduel sur l'organisme ciblé. Si c'est le cas, le mode d'action de cette toxine doit être décrit.

Le cas échéant, des informations sur le site d'infection, le mode d'entrée dans l'organisme ciblé et ses phases sensibles doivent être fournies. Les résultats de toute étude expérimentale doivent être communiqués.

Les voies d'administration possibles (contact, ingestion, inhalation, par exemple) du micro-organisme ou de ses métabolites, et singulièrement des toxines, doivent être précisées. La translocation éventuelle du micro-organisme ou de ses métabolites dans les végétaux doit être signalée ainsi que, le cas échéant, le mode de translocation.

En cas d'effet pathogène sur l'organisme ciblé, la dose infectante (dose nécessaire pour infecter une espèce ciblée avec l'effet souhaité) et la transmissibilité du micro-organisme [faculté de diffusion dans la population ciblée, mais également d'une espèce ciblée à une autre espèce (ciblée)] après application dans les conditions d'utilisation proposées doivent être précisées.

2.3. Plage de spécificité vis-à-vis de l'hôte et effets sur des espèces autres que l'organisme nuisible ciblé

Toutes les informations disponibles sur les effets sur les organismes non ciblés dans le secteur auquel le micro-organisme peut se propager doivent être fournies, et la présence de tout organisme non ciblé qui serait soit très proche de l'espèce ciblée, soit particulièrement exposé, doit être signalée.

Toute connaissance concernant la toxicité de la substance active ou de ses métabolites pour les êtres humains ou les animaux, leur capacité éventuelle de coloniser ou d'infester des êtres humains ou des animaux (y compris les sujets immunodéprimés) et leur éventuelle pathogénicité doit être mentionnée. Tout élément connu permettant d'indiquer si la substance active ou ses dérivés sont irritants pour la peau, les yeux ou les organes respiratoires des êtres humains ou des animaux et s'ils peuvent entraîner des réactions allergiques en cas de contact avec la peau ou d'inhalation doit également être signalé.

2.4. Stades de développement/cycle biologique du micro-organisme

Les informations disponibles sur le cycle biologique du micro-organisme, les cas décrits de symbiose, de parasitisme et de concurrence, les prédateurs, etc., ainsi que les organismes hôtes et, dans le cas des virus, les vecteurs, doivent être présentées.

Le temps de génération et le type de reproduction du micro-organisme, de même que les données relatives aux éventuelles phases de repos du micro-organisme, à sa durée de vie, à sa virulence et à son potentiel d'infection, doivent être indiqués.

Il doit également être spécifié si le micro-organisme, au cours des différents stades de développement suivant sa libération, possède la faculté de produire des métabolites, notamment des toxines préoccupantes pour la santé humaine ou pour l'environnement.

2.5. Infectiosité, capacité de propagation et de colonisation

La persistance du micro-organisme et les renseignements relatifs à son cycle biologique dans les conditions environnementales caractéristiques de l'utilisation prévue doivent être indiqués. Toute sensibilité particulière du micro-organisme à certains milieux environnementaux (par exemple rayons ultraviolets, sols, eau) doit en outre être signalée.

Les conditions environnementales (température, pH, humidité, nutriments, etc.) nécessaires à la survie et à la reproduction du micro-organisme, ainsi qu'à sa capacité de colonisation et de destruction (notamment des tissus humains) et à son efficacité doivent être indiquées. La présence de facteurs spécifiques de virulence doit être mentionnée.

La plage de températures dans laquelle la croissance du micro-organisme est possible doit être déterminée, et les températures minimale, maximale et optimale doivent être précisées. Ces données sont particulièrement utiles pour conduire l'étude des effets sur la santé humaine (section 5).

L'influence éventuelle de facteurs tels que la température, les rayons ultraviolets, le pH et la présence de certaines substances sur la stabilité des toxines concernées doit également être indiquée.

Toute information relative aux voies possibles de propagation du micro-organisme (par le biais de poussières en suspension dans l'air ou d'aérosols, d'organismes hôtes jouant le rôle de vecteurs, etc.), dans les conditions environnementales caractéristiques de l'utilisation prévue doit être fournie.

2.6. *Parenté avec des agents pathogènes végétaux, animaux ou humains connus*

L'existence éventuelle d'une ou de plusieurs espèces du même genre que les micro-organismes actifs ou, le cas échéant, contaminants, qui ont un effet pathogène connu sur les êtres humains, les animaux, les cultures ou d'autres espèces non ciblées doit être indiquée, et le type de pathologie causée doit être précisé. Il doit être spécifié s'il est possible de distinguer sans ambiguïté le micro-organisme actif des espèces pathogènes (et dans ce cas, par quel moyen).

2.7. *Stabilité génétique du micro-organisme et facteurs susceptibles de la compromettre*

S'il y a lieu, des informations doivent être fournies sur la stabilité génétique du micro-organisme (taux de mutation des traits relatifs au mode d'action, par exemple, ou absorption de matériel génétique exogène) dans les conditions environnementales de l'utilisation proposée.

Des informations doivent également être fournies sur la capacité du micro-organisme de transférer du matériel génétique à d'autres organismes et son potentiel pathogène pour les végétaux, les animaux et les êtres humains. Si le micro-organisme est porteur d'éléments génétiques sensibles supplémentaires, la stabilité des traits encodés doit être précisée.

2.8. *Informations relatives à la production de métabolites (et particulièrement de toxines)*

Lorsqu'il est acquis que d'autres souches de la même espèce microbienne que celle de la souche objet de la demande produisent des métabolites (en particulier des toxines) dont les effets sur la santé humaine et/ou sur l'environnement, en cours d'application ou après celle-ci, sont inacceptables, la nature et la structure de la substance en cause, sa présence sous une forme intracellulaire ou extracellulaire et sa stabilité, son mode d'action (en précisant les facteurs internes et externes nécessaires à l'action du micro-organisme), ainsi que ses effets sur les êtres humains, les animaux ou d'autres espèces non ciblées doivent être décrits.

Les conditions de production des métabolites (notamment des toxines) par le micro-organisme doivent être décrites.

Toutes les informations disponibles sur le mécanisme de régulation de la production des métabolites ainsi que l'influence des métabolites produits sur le mode d'action du micro-organisme doivent être fournies.

2.9. *Antibiotiques et autres agents antimicrobiens*

De nombreux micro-organismes produisent certaines substances antibiotiques. À toutes les étapes de l'élaboration d'un produit phytopharmaceutique microbien, il est impératif d'éviter les interférences avec l'utilisation des antibiotiques en médecine humaine ou vétérinaire.

En conséquence, des informations doivent être fournies sur la résistance ou la sensibilité du micro-organisme aux antibiotiques comme à d'autres agents antimicrobiens, notamment en ce qui concerne la stabilité des gènes codant pour la résistance aux antibiotiques, sauf s'il peut être démontré que le micro-organisme n'a aucun effet nocif sur la santé humaine ou animale, ou qu'il ne possède pas la faculté de transférer sa résistance aux antibiotiques ou aux autres agents antimicrobiens.

3. **Informations complémentaires relatives au micro-organisme**

Introduction

- i) Les informations fournies doivent indiquer à quelles fins les préparations contenant le micro-organisme seront ou devraient être utilisées, et préciser les doses et les modes d'utilisation pratiqués ou proposés.

- ii) Les informations fournies doivent préciser les méthodes et les précautions ordinaires à observer dans la manutention, l'entreposage et le transport du micro-organisme.
- iii) Les études, les données et les informations présentées doivent démontrer que les mesures proposées conviennent dans des situations d'urgence.
- iv) Les informations et les données visées sont requises pour tous les micro-organismes, sauf indication contraire.

3.1. *Fonction*

La fonction biologique doit être précisée parmi les fonctions suivantes:

- bactéricide,
- fongicide,
- insecticide,
- acaricide,
- molluscicide,
- nématocide,
- herbicide,
- autres (à préciser).

3.2. *Domaine d'utilisation envisagé*

Le ou les domaines d'utilisation actuels et proposés des préparations contenant le micro-organisme doivent être précisés parmi ceux qui figurent dans la liste ci-après:

- utilisation au champ (agriculture, horticulture, foresterie, viticulture, etc.),
- cultures protégées (sous serre, par exemple),
- jardins publics,
- désherbage des terres non cultivées,
- jardinage,
- plantes d'intérieur,
- produits entreposés,
- autres (à préciser).

3.3. *Cultures ou produits protégés ou traités*

L'utilisation actuelle et envisagée, s'agissant des cultures, groupes de cultures, végétaux ou produits végétaux protégés, doit être précisée.

3.4. *Mode de production et contrôle de qualité*

Une description exhaustive du mode de production à grande échelle du micro-organisme doit être fournie.

Le demandeur doit assurer un contrôle de qualité continu tant du procédé ou de la méthode de production que du produit obtenu. En particulier, toute modification spontanée des principales caractéristiques du micro-organisme ainsi que la présence ou l'absence de contaminants significatifs doivent être surveillées. Le détail des critères de garantie de la qualité applicables à la production doit être soumis.

Les techniques employées pour garantir l'uniformité du produit et les méthodes de vérification de la standardisation, de la conservation et de la pureté du micro-organisme doivent être décrites et spécifiées (par exemple, HACCP).

3.5. *Informations concernant la possibilité de l'apparition d'une résistance du ou des organismes ciblés*

Toute information disponible sur la possibilité de l'apparition d'une résistance ou d'une résistance croisée du ou des organismes ciblés doit être fournie. Le cas échéant, les stratégies de réponse appropriées doivent être décrites.

3.6. *Méthodes de prévention de la perte de virulence de l'inoculum initial du micro-organisme*

Les méthodes destinées à empêcher la perte de virulence des cultures initiales doivent être décrites.

Toute méthode éventuellement disponible pour éviter que le micro-organisme ne perde son efficacité sur les espèces ciblées doit également être décrite.

3.7. *Procédures et précautions recommandées en matière de manutention, d'entreposage et de transport ou en cas d'incendie*

La fiche de données de sécurité visée à l'article 31 du règlement (CE) n° 1907/2006 doit être fournie pour chaque micro-organisme.

3.8. *Procédures de destruction ou de décontamination*

Dans de nombreux cas, le meilleur ou l'unique moyen d'éliminer en toute sécurité des micro-organismes, des matériels ou des emballages contaminés est de les soumettre à une incinération contrôlée dans un incinérateur agréé.

Une description exhaustive des méthodes employées pour éliminer le micro-organisme en toute sécurité, ou, s'il y a lieu, pour le tuer avant élimination, ainsi que les modes d'élimination des emballages et matériels contaminés doivent être fournis. Des données permettant d'établir l'efficacité et la sûreté de ces méthodes doivent être fournies.

3.9. *Mesures à prendre en cas d'accident*

Les procédures destinées à rendre le micro-organisme inoffensif dans l'environnement (par exemple l'eau ou le sol) en cas d'accident doivent être décrites.

4. **Méthodes d'analyse**

Introduction

Les dispositions de la présente section s'appliquent exclusivement aux méthodes d'analyse requises pour le contrôle et la surveillance postérieurs à l'enregistrement.

Pour tous les éléments d'évaluation des risques, une surveillance post-autorisation pourra être envisagée, notamment lorsqu'une demande concerne des (souches de) micro-organismes qui ne sont pas indigènes de la zone d'application prévue. En ce qui concerne les méthodes d'analyse utilisées pour la production des données requises par le présent règlement ou à d'autres fins, le demandeur est tenu de fournir une justification de la méthode utilisée. Si nécessaire, des directives spécifiques seront élaborées pour ces méthodes sur la base des mêmes normes que celles requises pour les méthodes de contrôle et de surveillance postérieurs à l'enregistrement.

Une description des méthodes d'analyse contenant toutes les données utiles relatives à l'équipement, au matériel ainsi qu'aux conditions d'application doit être fournie. La possibilité d'appliquer une méthode internationalement reconnue doit être signalée.

Ces méthodes doivent être aussi simples que possible, peu onéreuses et faire appel à des équipements courants.

Pour les méthodes d'analyse des micro-organismes et de leurs résidus, les données relatives à la spécificité, à la linéarité, à l'exactitude et à la répétabilité, telles que définies à l'annexe, partie A, points 4.1 et 4.2, doivent également être fournies.

Les définitions mentionnées ci-après s'appliquent aux fins de la présente section.

Impuretés, métabolites, métabolites pertinents, résidus	Conformément à la définition du règlement (CE) n° 1107/2009.
Impuretés pertinentes	Impuretés, telles que définies ci-dessus, préoccupantes pour la santé humaine ou animale et/ou pour l'environnement.

Les échantillons suivants doivent être fournis sur demande:

- i) des échantillons du micro-organisme technique;
- ii) des étalons pour l'analyse des métabolites pertinents (en particulier des toxines) et de tous les autres composants compris dans la définition des résidus;
- iii) s'ils sont disponibles, des échantillons des substances de référence pour les impuretés pertinentes.

4.1. *Méthodes d'analyse du micro-organisme technique*

- Méthodes d'identification du micro-organisme.
- Méthodes d'obtention d'informations sur la variabilité possible de l'inoculum initial/du micro-organisme actif.
- Méthodes employées pour différencier les mutants du micro-organisme de la souche sauvage initiale.
- Méthodes employées pour établir la pureté de l'inoculum à partir duquel les lots sont produits, et méthodes employées pour contrôler la pureté.
- Méthodes employées pour déterminer la teneur en micro-organisme du matériel fabriqué utilisé pour la production des produits formulés et méthodes permettant de démontrer que les micro-organismes contaminants sont contenus dans des limites acceptables.
- Méthodes de détermination des impuretés pertinentes dans le matériel fabriqué.
- Méthodes employées pour vérifier l'absence et quantifier la présence (avec les limites appropriées de détermination) de tout agent pathogène pour les êtres humains et les mammifères.
- Méthodes permettant de déterminer la stabilité à l'entreposage et la durée de conservation du micro-organisme, le cas échéant.

4.2. *Méthodes de détermination et de quantification des résidus (viables ou non viables):*

- du ou des micro-organismes actifs,
- des métabolites pertinents (en particulier les toxines),

présents sur et/ou dans les cultures, les denrées alimentaires et les aliments pour animaux, les tissus et les fluides des êtres humains et des animaux, les sols, les eaux (potable, souterraines et de surface) ainsi que l'air, selon le cas.

Les méthodes analytiques de détermination de la teneur ou de l'activité des produits protéiniques, telles que l'analyse des cultures exponentielles et des surnageants de culture par dosage biologique sur cellules animales, doivent également être incluses.

5. **Effets sur la santé humaine**

Introduction

- i) Les informations disponibles sur les propriétés du micro-organisme et des organismes concernés (sections 1, 2 et 3), y compris les rapports sanitaires et médicaux, peuvent suffire pour déterminer si le micro-organisme est ou non susceptible d'avoir un effet (infectieux, pathogène ou toxique) sur la santé humaine.
- ii) Les informations fournies, jointes à celles concernant une ou plusieurs préparations contenant le micro-organisme, doivent être suffisantes pour permettre une évaluation des risques pour l'homme découlant, directement ou indirectement, de la manutention et de l'utilisation de produits phytopharmaceutiques contenant le micro-organisme, ainsi que du risque pour l'homme lié aux traces de résidus ou aux contaminants subsistant dans les denrées alimentaires et l'eau. En outre, les informations fournies doivent être suffisantes pour:
 - permettre une décision quant à l'approbation éventuelle du micro-organisme,

- permettre la fixation de conditions ou restrictions appropriées liées à une éventuelle approbation,
 - permettre la définition des mentions relatives à la nature des risques et aux conseils de prudence (une fois introduites) pour la protection de l'être humain, des animaux et de l'environnement à faire figurer sur les emballages (récipients),
 - définir les soins d'urgence appropriés ainsi que les mesures adéquates de diagnostic et de traitement thérapeutique à appliquer aux personnes en cas d'infection ou d'autre effet néfaste.
- iii) Tous les effets constatés au cours des recherches doivent être mentionnés. Les recherches éventuellement nécessaires pour évaluer la cause probable des effets constatés et la gravité de ces effets doivent également être engagées.
- iv) Pour toutes les études, la dose réelle employée, exprimée en unités formant colonies par kilogramme (UFC/kg) de masse corporelle, ainsi que dans d'autres unités appropriées, doit être mentionnée.
- v) L'évaluation du micro-organisme doit être effectuée par niveaux.

Le premier niveau (Niveau I) concerne les informations de base disponibles et les études de base, qui doivent être réalisées pour tous les micro-organismes. L'avis de spécialistes sera nécessaire pour décider cas par cas du programme d'essais approprié. Des données récentes issues d'expérimentations toxicologiques et/ou pathologiques sur des animaux de laboratoire sont normalement exigées, sauf si le demandeur est en mesure de démontrer, sur la base des informations précédemment fournies, que l'utilisation du micro-organisme, dans les conditions proposées, n'a aucun effet nocif sur la santé humaine ou animale. Dans l'attente de l'adoption de lignes directrices spécifiques au niveau international, les informations requises doivent être obtenues en appliquant les lignes directrices d'essai disponibles (comme celles de l'OPPTS de l'US EPA, par exemple).

Un deuxième niveau d'études doit être mené si les essais du premier niveau mettent au jour des effets nocifs sur la santé. Le type d'études à réaliser dépend de la nature des effets en question. Avant d'entamer ces études, le demandeur doit obtenir l'accord des autorités compétentes sur le type d'études à effectuer.

NIVEAU I

5.1. Informations de base

Des informations de base doivent être fournies sur les éventuels effets nocifs du micro-organisme, à savoir notamment sa capacité de former des colonies, de causer des dommages et de produire des toxines et autres métabolites pertinents.

5.1.1. Données médicales

Si elles sont disponibles, et sans préjudice des dispositions de l'article 10 de la directive 98/24/CE, les données et les informations pratiques concernant la reconnaissance des symptômes d'infection ou de pathogénicité et l'efficacité des mesures de premiers soins et thérapeutiques doivent être présentées. S'il y a lieu, l'efficacité d'antidotes potentiels doit être étudiée et relatée, et les méthodes permettant de tuer ou d'inactiver le micro-organisme doivent être indiquées (point 3.8).

Les données et les informations concernant les effets de l'exposition humaine, pour autant qu'elles soient disponibles au niveau de qualité nécessaire, ont une valeur particulière parce qu'elles peuvent confirmer le bien-fondé des extrapolations et des conclusions relatives aux organes ciblés, à la virulence et à la réversibilité des effets nocifs. De telles données peuvent être obtenues à la suite d'expositions résultant d'accidents ou d'activités professionnelles.

5.1.2. Surveillance médicale du personnel de l'établissement de fabrication

Les rapports disponibles des programmes de surveillance de la médecine du travail, étayés d'informations détaillées sur la conception du programme et l'exposition au micro-organisme, doivent être soumis. Ces rapports doivent comprendre, dans la mesure du possible, des données relatives au mécanisme d'action du micro-organisme. De même, ils doivent comporter les données éventuellement disponibles concernant les personnes exposées dans les usines de fabrication ou après application du micro-organisme (par exemple lors d'essais d'efficacité).

Une attention particulière doit être accordée aux personnes dont la sensibilité peut être affectée, par exemple, par une maladie préexistante, un médicament, un système immunitaire fragilisé, la grossesse ou l'allaitement.

5.1.3. Observations éventuelles de sensibilisation/pouvoir allergisant

Toute information disponible sur des cas de sensibilisation et de réaction allergique chez les travailleurs, qu'il s'agisse de travailleurs des établissements de fabrication, de travailleurs agricoles, de chercheurs ou de toute autre personne exposée au micro-organisme, doit être fournie, assortie, le cas échéant, d'une description détaillée de toute incidence d'hypersensibilité et de sensibilisation chronique. Les informations fournies doivent comporter des détails sur la fréquence, le niveau et la durée de l'exposition, les symptômes observés et autres observations cliniques pertinentes. Il doit également être précisé si les travailleurs concernés ont subi des tests allergiques ou ont été interrogés sur des manifestations allergiques.

5.1.4. Observation directe (cas cliniques, par exemple)

Les rapports provenant de sources bibliographiques publiques relatifs aux cas cliniques concernant le micro-organisme ou des membres étroitement apparentés du même groupe taxinomique doivent être fournis s'ils sont issus de revues faisant autorité ou de rapports officiels, ainsi que tout rapport concernant d'éventuelles études de suivi. Ces rapports, particulièrement utiles, doivent comporter des descriptions exhaustives de la nature, du degré et de la durée de l'exposition ainsi que la mention des symptômes cliniques observés, des mesures de premiers soins et thérapeutiques appliquées, des données mesurées et des observations effectuées. Un résumé ou des informations succinctes présentent peu d'intérêt.

Dans le cas où des études ont été réalisées sur les animaux, les rapports relatifs aux cas cliniques peuvent être particulièrement utiles pour confirmer la validité des extrapolations de l'animal à l'être humain et déceler tout effet nocif inattendu spécifique à l'homme.

5.2. Études de base

Pour pouvoir interpréter correctement les résultats obtenus, il est de la plus haute importance que les méthodes d'essai proposées soient appropriées en ce qui concerne la sensibilité, le mode d'administration, etc., et soient également adaptées du point de vue biologique et toxicologique. Le mode d'administration du micro-organisme utilisé aux fins d'essais est fonction des principaux types d'exposition des personnes.

Afin d'évaluer les effets à moyen et à long terme d'une exposition aiguë, subaiguë ou semi-chronique au micro-organisme, il est obligatoire d'appliquer la procédure figurant dans les lignes directrices de l'OCDE, et de prolonger la durée des études réalisées par une période de récupération à l'issue de laquelle une analyse pathologique macroscopique et microscopique complète doit être menée, avec recherche exploratoire du micro-organisme dans les tissus et les organes. Il est ainsi possible de faciliter l'interprétation de certains faits et d'établir l'infectiosité ou la pathogénicité, ce qui permet en retour de prendre des décisions sur d'autres points, tels que la nécessité d'entreprendre des études à long terme (de cancérogénicité, etc., comme évoqué au point 5.3) ou l'opportunité d'effectuer ou non des études sur les résidus (voir point 6.2).

5.2.1. Sensibilisation⁽¹⁾

Objet des essais

Les essais visent à fournir des informations suffisantes pour évaluer la capacité du micro-organisme d'induire des réactions de sensibilisation par inhalation et par exposition cutanée. Il y a lieu d'effectuer un essai maximisé.

Situations dans lesquelles les essais sont requis⁽²⁾

Toute information relative à la sensibilisation doit être rapportée.

5.2.2. Toxicité, pathogénicité et infectiosité aiguës

Les études, données et informations à fournir et à évaluer doivent être suffisantes pour permettre de déceler les effets d'une exposition unique au micro-organisme, et en particulier d'établir ou d'indiquer:

- la toxicité, la pathogénicité et l'infectiosité du micro-organisme,
- l'évolution au cours du temps et les caractéristiques des effets, avec description exhaustive des modifications comportementales et des éventuelles constatations macropathologiques à l'inspection post mortem,
- si possible, le mode d'action toxique,

⁽¹⁾ Les méthodes disponibles pour les essais de sensibilisation cutanée ne sont pas appropriées dans le cas des micro-organismes. La sensibilisation par inhalation pose très probablement de plus grands problèmes que l'exposition cutanée aux micro-organismes, mais aucune méthode d'essai n'a jusqu'ici été validée. La mise au point de ces types de méthodes revêt donc une grande importance. Jusque-là, il conviendra de considérer tous les micro-organismes comme des sensibilisants potentiels. Une telle optique permet aussi de tenir compte des personnes immunodéprimées ou des autres personnes sensibles (telles que les femmes enceintes, les nourrissons ou les personnes âgées).

⁽²⁾ Faute de méthodes d'essai appropriées, tous les micro-organismes sont considérés comme des sensibilisants potentiels, à moins que le demandeur ne s'efforce de prouver l'absence de potentiel de sensibilisation en présentant les données correspondantes. La soumission de telles données présente donc provisoirement un caractère non pas obligatoire mais facultatif.

- les dangers relatifs associés aux diverses voies d'exposition et
- les analyses de sang réalisées au cours de toutes les études, afin d'évaluer l'élimination du micro-organisme.

Les effets toxiques/pathogènes aigus peuvent être accompagnés d'une infectiosité et/ou d'autres effets à long terme qui ne peuvent être observés immédiatement. En vue de l'évaluation sanitaire, il est donc nécessaire d'étudier la capacité d'infection par ingestion, inhalation et injection intrapéritonéale/sous-cutanée sur des mammifères de laboratoire.

Les études de toxicité, de pathogénicité et d'infectiosité aiguës doivent comporter une évaluation de l'élimination du micro-organisme et/ou de la toxine active dans les organes jugés appropriés pour l'examen microbien (par exemple, le foie, les reins, la rate, les poumons, le cerveau, le sang et le site d'administration).

Les observations à faire doivent refléter un avis scientifique d'experts et peuvent comprendre un décompte du micro-organisme dans tous les tissus susceptibles d'être touchés (présentant des lésions, par exemple) et dans les organes vitaux: reins, cerveau, foie, poumons, rate, vessie, sang, ganglions lymphatiques, appareil gastro-intestinal, thymus ainsi qu'au niveau des lésions au site d'inoculation chez les animaux morts ou moribonds, en cours d'essai et au moment du sacrifice de l'animal.

Les informations produites par les essais de toxicité, de pathogénicité et d'infectiosité aiguës sont particulièrement utiles pour évaluer les dangers susceptibles de se présenter en cas d'accident ainsi que les risques pour le consommateur en cas d'exposition à d'éventuels résidus.

5.2.2.1. *Toxicité, pathogénicité et infectiosité aiguës par voie orale*

Situations dans lesquelles les essais sont requis

La toxicité, la pathogénicité et l'infectiosité aiguës par voie orale du micro-organisme doivent être signalées.

5.2.2.2. *Toxicité, pathogénicité et infectiosité aiguës par inhalation*

Situations dans lesquelles les essais sont requis

La toxicité ⁽¹⁾, la pathogénicité et l'infectiosité par inhalation du micro-organisme doivent être signalées.

5.2.2.3. *Dose unique intrapéritonéale/sous-cutanée*

L'essai intrapéritonéal/sous-cutané est considéré comme un mode hautement sensible de mise en évidence, notamment, de l'infectiosité.

Situations dans lesquelles les essais sont requis

L'injection intrapéritonéale est systématiquement requise pour tous les micro-organismes. Toutefois, dans le cas où leur température maximale de croissance et de multiplication est inférieure à 37 °C, il est laissé à l'appréciation des spécialistes de décider s'il est préférable de substituer une injection sous-cutanée à l'injection intrapéritonéale.

5.2.3. Essais de génotoxicité

Situations dans lesquelles les essais sont requis

Si le micro-organisme produit des exotoxines au sens du point 2.8, ces toxines et tout autre métabolite pertinent présents dans le milieu de culture doivent aussi être soumis à des essais de génotoxicité pratiqués, si possible, sur une forme purifiée de la substance chimique.

Lorsque les études de base ne révèlent pas la formation de métabolites toxiques, la décision de réaliser des études portant sur le micro-organisme lui-même doit reposer sur l'avis de spécialistes concernant l'importance et la validité des données de base. Dans le cas des virus, il y a lieu d'examiner le risque de mutagenèse insertionnelle dans les cellules de mammifères et le risque de cancérogenèse.

Objet des essais

Ces études présentent un intérêt pour:

- la prédiction du pouvoir génotoxique,
- l'identification précoce des cancérogènes génotoxiques,
- l'explication du mécanisme d'action de certains cancérogènes.

⁽¹⁾ L'étude d'inhalation peut être remplacée par une étude intratrachéale.

Il importe d'adopter une attitude souple, les autres essais à réaliser devant être fonction de l'interprétation des résultats à chaque étape.

Conditions d'essai ⁽¹⁾

La génotoxicité des micro-organismes cellulaires doit être étudiée, dans la mesure du possible, après fractionnement cellulaire. Il convient de motiver le choix de la méthode de préparation de l'échantillon.

La génotoxicité des virus doit être étudiée sur des isolats infectieux.

5.2.3.1. Études *in vitro*

Situations dans lesquelles les essais sont requis

Les résultats des essais de mutagenèse *in vitro* (dosage bactérien relatif à la mutation génique, essai de clastogénèse sur des cellules de mammifères et essai de mutation génique sur des cellules de mammifères) doivent être fournis.

5.2.4. Étude sur cultures cellulaires

Ces informations sont requises pour les micro-organismes à réplication intracellulaire tels que les virus, les viroïdes, certaines bactéries et certains protozoaires, sauf dans les cas où il ressort clairement des informations prévues aux sections 1, 2 et 3 que le micro-organisme concerné ne se réplique pas dans les organismes à sang chaud. Une étude doit être réalisée sur des cultures de cellules ou de tissus humains provenant de différents organes, sélectionnés par exemple sur la base des organes potentiellement ciblés par l'infection. Si les cultures de cellules ou de tissus humains provenant d'organes spécifiques ne sont pas disponibles, il est possible d'utiliser des cultures de cellules et de tissus provenant d'autres mammifères. En ce qui concerne les virus, la capacité d'interagir avec le génome humain est un élément clé.

5.2.5. Informations concernant la toxicité et la pathogénicité à court terme

Objet des essais

Les études de toxicité à court terme doivent être conçues pour fournir des informations sur la quantité de micro-organisme pouvant être tolérée sans provoquer d'effets toxiques dans les conditions de l'étude. Ces études fournissent des données utiles sur les risques encourus par les personnes qui manipulent et utilisent des préparations contenant le micro-organisme. En particulier, les études à court terme donnent un aperçu déterminant des effets cumulés possibles du micro-organisme et des risques encourus par les travailleurs qui y sont exposés de façon intensive. En outre, elles fournissent des informations utiles pour la conception des études de toxicité chronique.

Les études, données et informations à fournir et à évaluer doivent être suffisantes pour permettre de déceler les effets découlant d'une exposition répétée au micro-organisme et, en outre, d'établir ou d'indiquer notamment:

- la relation entre la dose et les effets néfastes,
- la toxicité du micro-organisme, y compris le cas échéant la DSENO pour les toxines,
- les organes ciblés, le cas échéant,
- l'évolution au cours du temps et les caractéristiques des effets, avec description exhaustive des modifications comportementales et des éventuelles constatations macropathologiques à l'inspection post mortem,
- les effets toxiques particuliers et les changements pathologiques provoqués,
- le cas échéant, la persistance et la réversibilité de certains effets toxiques observés, à la suite d'une interruption d'administration,
- si possible, le mode d'action toxique et
- les dangers relatifs associés aux diverses voies d'exposition.

Une estimation de l'élimination du micro-organisme dans les organes principaux doit être effectuée au cours de l'étude de toxicité à court terme.

Celle-ci doit comprendre par ailleurs des recherches sur les seuils de pathogénicité et d'infectiosité.

⁽¹⁾ Les méthodes d'essai actuelles étant conçues pour les substances chimiques solubles, il est nécessaire de les adapter aux micro-organismes.

Situations dans lesquelles les essais sont requis

La toxicité à court terme du micro-organisme (vingt-huit jours au minimum) doit être décrite.

Le choix du type d'essai doit être justifié. La durée de l'étude doit être décidée en fonction des données relatives à la toxicité aiguë et à l'élimination du micro-organisme.

La meilleure voie d'administration doit être choisie sur l'avis de spécialistes.

5.2.5.1. Effets sur la santé d'une exposition répétée par inhalation

Les informations sur les effets sur la santé d'une exposition répétée par inhalation sont considérées comme nécessaires, particulièrement pour l'évaluation des risques sur le lieu de travail. L'exposition répétée pourrait affecter la capacité d'élimination de l'hôte (humain), notamment en renforçant la résistance du micro-organisme. En outre, pour une bonne évaluation des risques, il convient d'étudier la toxicité après exposition répétée aux contaminants, au milieu de croissance, aux coformulants et au micro-organisme, sans oublier que les coformulants contenus dans le produit phytopharmaceutique peuvent influencer sur la toxicité et l'infectiosité d'un micro-organisme.

Situations dans lesquelles les essais sont requis

Des informations sur l'infectiosité, la pathogénicité et la toxicité à court terme du micro-organisme (voie respiratoire) sont exigées, à moins que les informations déjà fournies ne suffisent pour évaluer les effets sur la santé humaine. Cela peut être le cas s'il est démontré que le matériel soumis à l'essai ne comporte aucune fraction inhalable et/ou qu'aucune exposition répétée n'est envisagée.

5.2.6. Traitement proposé: mesures de premiers soins et traitement médical

Les premiers soins à appliquer en cas d'infection ou de contamination des yeux doivent être prévus.

Les régimes thérapeutiques à appliquer en cas d'ingestion ou de contamination des yeux ou de la peau doivent faire l'objet d'une description exhaustive. Des informations relatives à l'efficacité de régimes thérapeutiques de substitution fondées sur l'expérience pratique ou, à défaut, sur des considérations théoriques, doivent être fournies, de même que des informations sur la résistance aux antibiotiques.

(FIN DU NIVEAU I)

NIVEAU II

5.3. Études spécifiques de toxicité, de pathogénicité et d'infectiosité

Dans certains cas, il peut être nécessaire d'effectuer des études complémentaires pour clarifier les effets nocifs sur l'homme.

Des études de toxicité, de pathogénicité et d'infectiosité chroniques ainsi que de cancérogénicité et de toxicité reproductrice doivent notamment être effectuées lorsque les résultats des études précédentes indiquent que le micro-organisme peut avoir des effets à long terme sur la santé. Dans les cas où il y a production d'une toxine, des études cinétiques doivent en outre être effectuées.

Les études requises peuvent être conçues sur une base individuelle, compte tenu des paramètres spécifiques à examiner et des objectifs à atteindre. Avant d'entamer ces études, le demandeur doit obtenir l'accord des autorités compétentes sur le type d'études à effectuer.

5.4. Études in vivo sur cellules somatiques

Situations dans lesquelles les essais sont requis

Si les résultats des études *in vitro* sont tous négatifs, des essais supplémentaires doivent être entrepris sur la base des autres informations utiles disponibles. Il peut s'agir d'une étude *in vivo* ou d'une étude *in vitro* utilisant un système métabolique différent de celui ou de ceux précédemment employés.

Si l'essai cytogénétique *in vitro* est positif, il convient d'effectuer un essai *in vivo* sur des cellules somatiques (analyse des cellules en métaphase dans la moelle osseuse des rongeurs ou essai du micronoyau de rongeurs).

Si l'un ou l'autre des essais de mutation génique *in vitro* est positif, il faut effectuer un essai *in vivo* afin d'analyser la synthèse non programmée de l'ADN (UDS), ou un «spot test» chez la souris.

5.5. *Génotoxicité — études in vivo sur cellules germinales*

Objet et conditions des essais

Voir le point 5.4 de la partie A.

Situations dans lesquelles les essais sont requis

Si l'un quelconque des résultats des essais effectués *in vivo* sur des cellules somatiques est positif, la réalisation d'un essai *in vivo* pour déterminer les effets sur les cellules germinales peut se justifier. La nécessité d'effectuer ces essais doit être examinée cas par cas compte tenu des autres informations disponibles relatives notamment aux modalités d'utilisation et aux situations prévisibles d'exposition. Des essais appropriés (tels que l'essai de létalité dominante) devront permettre d'examiner l'interaction avec l'ADN, de déterminer le risque d'effets héréditaires et, si possible, d'en évaluer quantitativement l'héritabilité. Compte tenu de la complexité des études quantitatives, il est reconnu que le recours à ce type d'études suppose une justification solide.

(FIN DU NIVEAU II)

5.6. *Synthèse: toxicité, pathogénicité et infectiosité pour les mammifères et évaluation globale*

Une synthèse de toutes les données et informations fournies en application des points 5.1 à 5.5 doit être présentée; elle doit comporter une évaluation détaillée et critique desdites données qui réponde aux lignes directrices et critères d'appréciation et de décision en mettant l'accent, en particulier, sur les risques et dangers réels et potentiels présentés pour l'homme et les animaux, et apprécie l'ampleur, la qualité et la fiabilité de la base de données.

Il doit être expliqué si l'exposition des animaux ou des êtres humains a des implications pour la vaccination ou le contrôle sérologique.

6. **Résidus dans ou sur les produits traités, les denrées alimentaires et les aliments pour animaux**

Introduction

i) Les informations fournies, associées à celles présentées pour une ou plusieurs préparations contenant le micro-organisme, doivent être suffisantes pour réaliser une évaluation des risques pour les êtres humains et/ou les animaux découlant d'une exposition au micro-organisme ou aux traces de résidus et métabolites (toxines) qu'il laisse dans ou sur les végétaux ou produits végétaux.

ii) En outre, les informations fournies doivent être suffisantes pour:

- permettre une décision quant à l'approbation éventuelle du micro-organisme,
- fixer les conditions ou restrictions appropriées liées à toute approbation,
- le cas échéant, fixer les limites maximales de résidus, les délais d'emploi avant récolte destinés à protéger les consommateurs et les délais d'attente destinés à protéger les travailleurs amenés à manipuler les récoltes et les produits traités.

iii) Pour l'évaluation des risques liés aux résidus, les données expérimentales concernant les niveaux d'exposition aux résidus ne sont pas systématiquement exigées dès lors qu'il peut être démontré que le micro-organisme et ses métabolites ne sont pas dangereux pour l'homme aux concentrations prévues pour l'utilisation autorisée. Les éléments de démonstration correspondants peuvent être fondés sur des sources bibliographiques publiques, l'expérience pratique et les informations visées aux sections 1, 2, 3 et 5.

6.1. *Persistence et probabilité de multiplication dans ou sur les cultures, les aliments pour animaux ou les denrées alimentaires*

Une estimation dûment justifiée de la persistance/compétitivité du micro-organisme et des métabolites secondaires pertinents (en particulier les toxines) dans ou sur les cultures, dans les conditions environnementales habituelles au moment de l'utilisation prévue et après celle-ci doit être fournie, en tenant compte notamment des informations prévues à la section 2.

En outre, le dossier de demande doit préciser dans quelle mesure et sur quelle base on estime que le micro-organisme possède (ou non) la faculté de se multiplier dans ou sur les végétaux ou produits végétaux ou lors des opérations de transformation des produits crus.

6.2. *Informations complémentaires requises*

Les consommateurs peuvent être exposés aux micro-organismes pendant un temps considérable à la suite de la consommation de denrées alimentaires traitées. Il convient donc d'établir les effets potentiels sur les consommateurs sur la base d'études de chronicité ou de semi-chronicité visant à définir, aux fins de la gestion des risques, un seuil toxicologique (DJA, par exemple).

6.2.1. Résidus non viables

On entend par micro-organisme non viable un micro-organisme incapable de se reproduire ou de transférer du matériel génétique.

Si les informations fournies en application des points 2.4 et 2.5 ont amené à conclure à la persistance d'une quantité sensible du micro-organisme ou de métabolites produits par celui-ci, en particulier des toxines, il y a lieu de fournir un relevé exhaustif des données expérimentales sur les résidus visés à la présente annexe, partie A, section 6, dès lors que le micro-organisme et/ou ses toxines sont susceptibles de se trouver sur ou dans les denrées alimentaires ou aliments pour animaux traités à des concentrations supérieures à celles observées en conditions naturelles ou dans un état phénotypique différent.

Conformément au règlement (CE) n° 1107/2009, les conclusions relatives à la différence entre les concentrations naturelles et une concentration élevée due au traitement par le micro-organisme doivent se fonder sur des données obtenues par la voie expérimentale, et non sur des extrapolations ou calculs effectués à partir de modèles.

Avant d'entamer ces études, le demandeur doit obtenir l'accord des autorités compétentes pour le type d'études à effectuer.

6.2.2. Résidus viables

Si les informations fournies en application du point 6.1 suggèrent qu'il y a persistance d'une quantité sensible du micro-organisme sur ou dans les produits, denrées alimentaires ou aliments pour animaux traités, il y a lieu d'en étudier les effets possibles sur l'homme et/ou les animaux, sauf s'il est démontré au titre de la section 5 que le micro-organisme et ses métabolites et/ou les produits issus de leur dégradation ne sont pas dangereux pour l'homme dans l'état et aux concentrations correspondant à l'utilisation autorisée.

Conformément au règlement (CE) n° 1107/2009, les conclusions relatives à la différence entre les concentrations naturelles et une concentration élevée due au traitement par le micro-organisme doivent se fonder sur des données obtenues par la voie expérimentale, et non sur des extrapolations ou calculs effectués à partir de modèles.

La persistance de résidus viables doit faire l'objet d'une attention particulière si les informations portées au titre des sections 2.3 et 2.5 ou de la section 5 révèlent une infectiosité ou une pathogénicité touchant les mammifères et/ou si toute autre information suggère un danger pour les consommateurs et/ou les travailleurs. Dans ce cas, les autorités compétentes peuvent exiger des études semblables à celles prévues dans la partie A.

Avant d'entamer ces études, le demandeur doit obtenir l'accord des autorités compétentes pour le type d'études à effectuer.

6.3. Résumé et évaluation du comportement des résidus, sur la base des données fournies conformément aux points 6.1 et 6.2

7. Devenir et comportement dans l'environnement

Introduction

- i) Les informations sur l'origine, les propriétés et la survie du micro-organisme et de ses métabolites résiduels ainsi que sur l'utilisation proposée du micro-organisme forment la base de l'évaluation de son devenir et de son comportement dans l'environnement.

Des données expérimentales sont normalement exigées, à moins qu'il puisse être démontré que cette évaluation est réalisable à partir des informations déjà disponibles. Les éléments de démonstration correspondants peuvent être fondés sur des sources bibliographiques publiques, l'expérience pratique et les informations visées aux sections 1 à 6. On s'intéressera particulièrement à la fonction du micro-organisme dans les processus environnementaux.

- ii) Les informations fournies, associées aux autres informations pertinentes, notamment à celles qui concernent une ou plusieurs préparations contenant le micro-organisme, doivent être suffisantes pour évaluer le devenir et le comportement du micro-organisme, de ses traces de résidus et de ses toxines dès lors que ceux-ci présentent un risque pour la santé humaine et/ou pour l'environnement.

- iii) En particulier, les informations fournies doivent être suffisantes pour:

- permettre une décision quant à l'approbation éventuelle du micro-organisme,
- fixer les conditions ou restrictions appropriées liées à toute approbation,

- fixer les pictogrammes (une fois introduits), les mentions d'avertissements et les mentions de danger et conseils de prudence appropriés pour la protection de l'environnement, à faire figurer sur l'emballage (récipients),
 - prévoir la dispersion, le devenir et le comportement dans l'environnement du micro-organisme et de ses métabolites ainsi que les durées correspondantes,
 - déterminer les mesures nécessaires pour réduire au minimum la contamination de l'environnement et l'incidence sur les espèces non ciblées.
- iv) Tout métabolite pertinent (c'est-à-dire préoccupant pour la santé humaine et/ou l'environnement) produit par l'organisme soumis aux essais dans toutes les conditions environnementales appropriées doit faire l'objet d'une caractérisation. Dans les cas où des métabolites pertinents sont présents dans le micro-organisme ou produits par ce dernier, les données prévues à la présente annexe, partie A, section 7, peuvent être exigées dès lors que toutes les conditions ci-après sont réunies:
- le métabolite pertinent est stable hors du micro-organisme (voir point 2.8),
 - l'effet toxique du métabolite pertinent est indépendant de la présence du micro-organisme,
 - le métabolite pertinent est susceptible d'être présent dans l'environnement à des concentrations considérablement plus élevées que dans des conditions naturelles.
- v) Les informations disponibles sur les liens avec des souches sauvages apparentées présentes dans la nature doivent être prises en compte.
- vi) Avant d'engager les études visées ci-après, le demandeur est tenu d'obtenir l'accord des autorités compétentes sur l'opportunité de mener de telles études et, dans l'affirmative, sur le type d'études à entreprendre. Les informations visées dans les autres sections doivent également être prises en considération.

7.1. *Persistence et multiplication*

Il convient de fournir, si nécessaire, des informations pertinentes sur la persistance et la multiplication du micro-organisme dans tous les milieux environnementaux, sauf s'il peut être démontré que toute exposition des différents milieux considérés au micro-organisme est improbable, en accordant une attention particulière:

- à la compétitivité dans les conditions environnementales normales au moment de l'utilisation proposée et après celle-ci,
- à la dynamique de population sous des climats marqués par des extrêmes à caractère saisonnier ou régional (étés particulièrement chauds, hivers particulièrement froids, précipitations abondantes) et aux pratiques agricoles mises en œuvre après l'application du produit.

Une estimation chiffrée de la présence du micro-organisme concerné sur une durée donnée après utilisation du produit dans les conditions proposées doit être indiquée.

7.1.1. Sols

Les informations sur la viabilité/la dynamique de population doivent être présentées pour plusieurs types de sols cultivés ou non cultivés caractéristiques des différentes régions de l'Union européenne où l'utilisation du produit est prévue ou déjà effective. Il y a lieu à cet effet d'observer les dispositions prévues dans la partie A, point 7.1, introduction, en ce qui concerne le choix, le mode de prélèvement et la manipulation des sols. S'il est prévu d'utiliser l'organisme soumis aux essais en association avec d'autres constituants tels que la laine de roche, ceux-ci doivent être inclus dans la batterie d'essais.

7.1.2. Eau

Des informations doivent être fournies sur la viabilité/la dynamique de population du micro-organisme dans les systèmes sédimentaires/hydrauliques, tant dans l'obscurité qu'en pleine lumière.

7.1.3. Air

En cas de préoccupations particulières liées à l'exposition des opérateurs, des travailleurs ou de toute autre personne présente, des informations sur les concentrations dans l'air peuvent être nécessaires.

7.2. Mobilité

La propagation éventuelle du micro-organisme et des produits issus de sa dégradation dans tous les milieux environnementaux doit faire l'objet d'une évaluation, sauf s'il peut être démontré que toute exposition des différents milieux considérés au micro-organisme est improbable. Dans cette perspective, on s'intéressera particulièrement à l'utilisation prévue (au champ ou sous serre, en application sur les sols ou sur les cultures, par exemple), au cycle biologique du micro-organisme et à ses différents stades, à la présence de vecteurs, à la persistance et à la capacité du micro-organisme de coloniser des habitats adjacents.

La propagation, la persistance et les distances probables de dissémination appellent une attention particulière si une toxicité, une infectiosité ou une pathogénicité ont été rapportées ou si d'autres informations suggèrent la possibilité d'un danger pour les personnes, les animaux ou l'environnement. Dans ce cas, les autorités compétentes peuvent exiger des études semblables à celles prévues dans la partie A. Avant d'entamer ces études, le demandeur doit obtenir l'accord des autorités compétentes pour le type d'études à effectuer.

8. Effets sur les organismes non ciblés

Introduction

- i) Les informations concernant l'identité et les propriétés biologiques ainsi que les informations complémentaires visées aux sections 1, 2, 3 et 7 sont capitales pour évaluer les effets sur les espèces non ciblées. En complément, des informations utiles sur, d'une part, le devenir et le comportement du micro-organisme dans l'environnement et, d'autre part, les teneurs en résidus des végétaux figurent, respectivement, aux sections 7 et 6. Associées aux renseignements concernant la nature de la préparation et son mode d'utilisation, elles permettent de définir la nature de l'exposition potentielle et d'en délimiter l'étendue. Les informations fournies au titre de la section 5 sont essentielles pour évaluer les effets sur les mammifères et les mécanismes en jeu.

Des données expérimentales sont normalement exigées, à moins qu'il ne puisse être démontré que l'évaluation des effets sur les organismes non ciblés est réalisable à partir des informations déjà disponibles.

- ii) La sélection des organismes non ciblés à inclure dans l'étude des effets sur l'environnement doit être fondée sur la nature du micro-organisme (notamment la spécificité de l'hôte, le mode d'action et le mode de fonctionnement écologique de l'organisme). Ces éléments doivent permettre de choisir en vue des essais les organismes appropriés, à savoir, par exemple, des organismes étroitement apparentés à l'organisme ciblé.
- iii) Les informations fournies, jointes à celles qui concernent une ou plusieurs préparations contenant le micro-organisme, doivent être suffisantes pour permettre d'évaluer les effets sur les espèces non ciblées (flore et faune) ayant une importance pour l'environnement et pour lesquelles une exposition au micro-organisme peut être dangereuse. Ces effets peuvent être dus à une exposition unique, prolongée ou répétée et peuvent être réversibles ou irréversibles.
- iv) En particulier, les informations fournies sur le micro-organisme, associées aux autres informations pertinentes et aux informations relatives à une ou plusieurs préparations contenant le micro-organisme, doivent être suffisantes pour:
 - permettre une décision quant à l'approbation éventuelle du micro-organisme,
 - fixer les conditions ou restrictions appropriées liées à toute approbation,
 - permettre une évaluation des risques à court terme comme à long terme pour les espèces non ciblées (populations, communautés et processus, selon le cas),
 - classer le micro-organisme selon le danger biologique qu'il présente,
 - préciser les précautions à prendre pour protéger les espèces non ciblées, et
 - fixer les pictogrammes (une fois introduits), les mentions d'avertissements et les mentions de danger et les conseils de prudence appropriés pour la protection de l'environnement, à faire figurer sur l'emballage (récipients).
- v) Il y a lieu de mentionner tous les effets potentiellement néfastes constatés au cours des investigations de routine sur les effets environnementaux. Il convient également, sur demande des autorités compétentes, d'effectuer et de relater les études supplémentaires qui se révéleraient nécessaires pour recenser les mécanismes susceptibles d'être en cause et évaluer l'importance des effets constatés. Il est indispensable de rapporter toutes les données et informations biologiques disponibles concourant à l'évaluation du profil écologique du micro-organisme.
- vi) Pour toutes les études, la dose moyenne employée, exprimée en unités formant colonie par kilogramme (UFC/kg) de masse corporelle ainsi que dans d'autres unités appropriées, doit être mentionnée.

- vii) Des études séparées sur les métabolites pertinents (notamment les toxines) peuvent s'imposer lorsque ces produits peuvent présenter un risque non négligeable pour les organismes non ciblés et que les résultats des études concernant le micro-organisme ne permettent pas d'évaluer leurs effets. Avant d'engager les travaux, le demandeur est tenu d'obtenir l'accord des autorités compétentes sur l'opportunité de mener de telles études et, dans l'affirmative, sur le type d'études à entreprendre. Les informations visées aux sections 5, 6 et 7 doivent être prises en considération.
- viii) Pour faciliter l'évaluation des résultats obtenus et de leur portée, il y a lieu, dans la mesure du possible, d'utiliser pour les différents essais prescrits la même souche (ou origine certifiée) de chacune des espèces concernées.
- ix) Les essais sont obligatoires, sauf s'il peut être démontré que l'organisme non ciblé ne sera pas exposé au micro-organisme. S'il est démontré que le micro-organisme n'a aucun effet toxique, pathogène ou infectieux sur les vertébrés ou les végétaux, les investigations se limitent aux réactions des organismes non ciblés appropriés.
- 8.1. *Effets sur les oiseaux*
Objet des essais
Des informations doivent être fournies sur la toxicité, l'infectiosité et la pathogénicité pour les oiseaux.
- 8.2. *Effets sur les organismes aquatiques*
Objet des essais
Des informations doivent être fournies sur la toxicité, l'infectiosité et la pathogénicité pour les organismes aquatiques.
- 8.2.1. *Effets sur les poissons*
Objet des essais
Des informations doivent être fournies sur la toxicité, l'infectiosité et la pathogénicité pour les poissons.
- 8.2.2. *Effets sur les invertébrés d'eau douce*
Objet des essais
Des informations doivent être fournies sur la toxicité, l'infectiosité et la pathogénicité pour les invertébrés d'eau douce.
- 8.2.3. *Effets sur la croissance des algues*
Objet des essais
Des informations doivent être fournies en ce qui concerne les effets sur la croissance des algues, leur taux de croissance et leur capacité de récupération.
- 8.2.4. *Effets sur les végétaux autres que les algues*
Objet des essais
Des informations doivent être fournies en ce qui concerne les effets sur les végétaux autres que les algues.
- 8.3. *Effets sur les abeilles*
Objet des essais
Des informations doivent être fournies sur la toxicité, l'infectiosité et la pathogénicité pour les abeilles.
- 8.4. *Effets sur les arthropodes autres que les abeilles*
Objet des essais
Des informations doivent être fournies sur la toxicité, l'infectiosité et la pathogénicité pour les arthropodes autres que les abeilles. Les espèces à inclure dans les essais doivent être sélectionnées sur la base des usages potentiels des produits phytopharmaceutiques concernés (application foliaire ou sur les sols, par exemple). Il convient d'accorder une attention particulière aux micro-organismes utilisés aux fins de lutte biologique et à ceux qui jouent un rôle important dans la lutte intégrée contre les organismes nuisibles.
- 8.5. *Effets sur les vers de terre*
Objet des essais
Des informations doivent être fournies sur la toxicité, l'infectiosité et la pathogénicité pour les vers de terre.

8.6. *Effets sur les micro-organismes non ciblés présents dans les sols*

Les effets sur les micro-organismes non ciblés pertinents et sur leurs prédateurs (par exemple, des protozoaires, dans le cas des inoculants bactériens) doivent être signalés. Un avis de spécialistes est exigé pour décider s'il convient d'engager des études complémentaires. Cette décision doit prendre en considération les informations disponibles au titre de la présente section mais également d'autres sections, notamment les données relatives à la spécificité du micro-organisme et aux situations d'exposition prévues. Les observations réalisées lors d'essais d'efficacité peuvent également fournir à cet égard des informations utiles. Une attention particulière doit être accordée aux micro-organismes utilisés dans le cadre de la gestion intégrée des cultures.

8.7. *Études supplémentaires*

Les études supplémentaires peuvent comprendre d'autres études de l'exposition aiguë portant sur des espèces ou des systèmes supplémentaires (tels qu'un réseau d'égouts) ou des études approfondies consacrées, par exemple, aux effets chroniques ou sublétaux sur certains organismes non ciblés ou encore aux effets sur leur reproduction.

Avant d'entamer ces études, le demandeur doit obtenir l'accord des autorités compétentes pour le type d'études à effectuer.

9. **Synthèse et évaluation des incidences sur l'environnement**

Une synthèse et une évaluation de toutes les données concernant l'incidence sur l'environnement doivent être élaborées conformément aux lignes directrices établies par les autorités compétentes des États membres au sujet du format de telles synthèses et évaluations. Elles doivent comporter une évaluation détaillée et critique desdites données qui réponde aux lignes directrices et critères d'appréciation et de décision en mettant l'accent, en particulier, sur les risques et dangers réels et potentiels présentés pour l'environnement et pour les espèces non ciblées, et apprécie l'ampleur, la qualité et la fiabilité de la base de données. Une attention particulière doit être accordée aux points suivants:

- la dissémination et le devenir dans l'environnement, avec mention des durées correspondantes,
 - l'identification des espèces et des populations non ciblées susceptibles d'être affectées ainsi que l'ampleur de leur exposition potentielle,
 - la détermination des précautions nécessaires pour éviter ou réduire au minimum la contamination de l'environnement protégé les espèces non ciblées.
-