

Fisheries and Oceans Canada

Sciences des écosystèmes et des océans

Ecosystems and Oceans Science

## Secrétariat canadien des avis scientifiques (SCAS)

Document de recherche 2023/060 Région du Pacifique

Devenir dans l'environnement et effets biologiques potentiels du benzoate d'émamectine, un agent chimiothérapeutique antiparasitaire (ingrédient actif de SLICE®), dans le milieu marin canadien

Michael G. Ikonomou

Pêches et Océans Canada Institut des sciences de la mer 9860, chemin West Saanich Sidney (Colombie-Britannique) V8L 4B2



### **Avant-propos**

La présente série documente les fondements scientifiques des évaluations des ressources et des écosystèmes aquatiques du Canada. Elle traite des problèmes courants selon les échéanciers dictés. Les documents qu'elle contient ne doivent pas être considérés comme des énoncés définitifs sur les sujets traités, mais plutôt comme des rapports d'étape sur les études en cours.

#### Publié par :

Pêches et Océans Canada Secrétariat canadien des avis scientifiques 200, rue Kent Ottawa (Ontario) K1A 0E6

http://www.dfo-mpo.gc.ca/csas-sccs/csas-sccs/dfo-mpo.gc.ca



© Sa Majesté le Roi du chef du Canada, représenté par le ministre du ministère des Pêches et des Océans, 2023 ISSN 2292-4272

ISBN 978-0-660-49876-8 N° cat. Fs70-5/2023-060F-PDF

#### La présente publication doit être citée comme suit :

Ikonomou, M.G. 2023. Devenir dans l'environnement et effets biologiques potentiels du benzoate d'émamectine, un agent chimiothérapeutique antiparasitaire (ingrédient actif de SLICE®), dans le milieu marin canadien. Secr. can. des avis sci. du MPO. Doc. de rech. 2023/060. iv + 28 p.

#### Also available in English:

Ikonomou, M.G. 2023. Environmental Fate and Potential Biological Effects of the Anti-Parasitic Chemo-therapeutant Emamectin Benzoate (active ingredient of SLICE®) in the Canadian Marine Environment. DFO Can. Sci. Advis. Sec. Res. Doc. 2023/060. iv + 25 p.

# **TABLE DES MATIÈRES**

RI	ESUME	iv
1.	RENSEIGNEMENTS DE BASE	1
2.	ANALYSE ET RÉPONSE	
	2.1. DANS QUELLE MESURE LE BENZOATE D'ÉMAMECTINE A-T-IL ÉTÉ DOCUMENT DANS LE MILIEU AQUATIQUE ABIOTIQUE AU CANADA?	
	2.1.1. Eau	4
	2.1.2. Sédiment	
	2.2. QUELLE EST LA QUANTITÉ DE BENZOATE D'ÉMAMECTINE QUI ABOUTIT DANS LES SÉDIMENTS APRÈS UN CYCLE COMPLET DE TRAITEMENT AVEC SLICE® À UN ENDROIT PRÉCIS?	ا 7
	2.3. DANS QUELLE MESURE LE BENZOATE D'ÉMAMECTINE A-T-IL ÉTÉ DÉCELÉ DA LE BIOTE AQUATIQUE AU CANADA?	
	2.3.1. Échantillons de crevettes sauvages	9
	2.3.2. Échantillons de crevettes confinées	9
	2.4. LE BENZOATE D'ÉMAMECTINE EST-IL TOXIQUE POUR LE BIOTE AQUATIQUE?	.10
	2.5. DANS QUELLE MESURE LE BENZOATE D'ÉMAMECTINE EST-IL STABLE OU PERSISTANT DANS L'ENVIRONNEMENT?	.11
	2.6. DES RECHERCHES SONT-ELLES NÉCESSAIRES POUR INFORMER LES GESTIONNAIRES SUR LE DEVENIR DU BENZOATE D'ÉMAMECTINE ET SES EFFETS DANS LE MILIEU AQUATIQUE CANADIEN?	.13
3.	CONCLUSIONS	. 14
4.	FIGURES	.16
5.	RÉFÉRENCES CITÉES	.25
1A	NNEXE A. DÉTAILS DE L'ÉTUDE D'EXPOSITION EN LABORATOIRE	. 26
	A.1. EXPÉRIENCES D'EXPOSITION AU BENZOATE D'ÉMAMECTINE	

# RÉSUMÉ

SLICE® est l'un des agents chimiothérapeutiques utilisés pour lutter contre les infestations de poux du poisson dans les installations aquacoles de poissons marins au Canada. De nombreux groupes d'intérêt sont préoccupés par l'absorption par des organismes non ciblés de son ingrédient actif, le benzoate d'émamectine (BE), ainsi que par les effets potentiels du benzoate d'émamectine sur les organismes non ciblés. On a mesuré la quantité de benzoate d'émamectine, en parties par billion (p.p. 1012), dans des échantillons d'eau prélevés à proximité immédiate de deux fermes salmonicoles en Colombie-Britannique après le traitement avec SLICE®. Le benzoate d'émamectine a également été décelé en parties par milliard (p.p. 109) dans des échantillons de sédiments et dans les tissus musculaires de crevettes tachetées capturées dans un rayon de 150 m du parc en filet. Les concentrations de sédiments étaient liées aux conditions océanographiques propres à chaque site. On a constaté la présence de benzoate d'émamectine dans les sédiments jusqu'à un an et demi après le traitement avec SLICE®. Les effets sublétaux potentiels du benzoate d'émamectine sur la crevette tachetée ont été examinés dans une série d'expériences d'exposition en laboratoire. Les résultats permettent de penser que l'exposition à court terme au benzoate d'émamectine peut avoir des effets sur ce crustacé non ciblé.

#### 1. RENSEIGNEMENTS DE BASE

SLICE® est le nom commercial d'un produit thérapeutique fabriqué par Schering-Plough Animal Health Corporation, commercialisé comme un traitement efficace contre les stades juvéniles vagiles préadultes et adultes d'espèces de poux chez les saumons d'élevage. Les poux du poisson sont des copépodes ectoparasites qui se fixent aux salmonidés et à d'autres espèces marines et se nourrissent de la peau, du mucus et du sang des poissons, laissant des lésions ouvertes qui deviennent sensibles aux infections bactériennes ou virales et peuvent entraîner la mortalité de l'hôte. Ce traitement cible deux espèces de poux : *Lepeophtheirus salmonis* (cible principale) et *Caligus elongatus* (en Colombie-Britannique, la deuxième espèce d'intérêt est *C. cleminsi*). L'ingrédient actif du traitement est le benzoate d'émamectine (BE), qui est administré aux saumons dans des aliments médicamenteux. Le benzoate d'émamectine agit comme un perturbateur de l'activité des neurotransmetteurs (activateur des canaux de chlorure) dans l'organisme cible. Une étude des effets nocifs potentiels de cet insecticide sur d'autres crustacés marins non ciblés s'impose.

Au Canada, SLICE® est l'un des agents chimiothérapeutiques utilisés pour contrôler les infestations de poux du poisson dans les élevages de poissons marins. En Colombie-Britannique, SLICE® est le seul agent chimiothérapeutique utilisé pour lutter contre le pou du poisson. Il s'agit d'un enrobage prémélangé, appliqué sur des aliments granulés pour poisson et administré sous la supervision d'un vétérinaire. Depuis 1999, SLICE® est prescrit par des vétérinaires en Colombie-Britannique au cas par cas dans le cadre du programme de distribution de médicaments d'urgence de Santé Canada. En 2009, SLICE® a reçu l'approbation complète de la Direction des médicaments vétérinaires de Santé Canada en vue de son utilisation au Canada.

L'intensité de la dose recommandée de SLICE® pour lutter contre le pou du poisson est de 50 μg/kg de poids corporel par jour pendant sept jours consécutifs (ainsi, pour chaque kilogramme de poisson traité, 350 µg de benzoate d'émamectine seront nécessaires sur une période de traitement de sept jours). Le produit peut être utilisé jusqu'à trois fois par année (maximum de cinq traitements au cours d'un cycle de grossissement de deux ans). D'après ces paramètres, un seul traitement d'un élevage typique contenant 280 000 poissons de 2,50 kg chacun représente un total d'environ 250 g de benzoate d'émamectine utilisé, soit une utilisation annuelle d'environ 20 kg si les 80 exploitations actuellement actives en Colombie-Britannique (voir ci-après) devaient traiter une fois par année. Les données historiques indiquent que la Direction de l'agriculture du ministère de l'Agriculture et des Terres de la Colombie-Britannique a déclaré une consommation annuelle de SLICE® de 2,4 kg en 2000, de 4,2 kg en 2001 et de 8,9 kg en 2002. Selon le ministère de l'Environnement de la Colombie-Britannique, l'utilisation totale déclarée de SLICE® en 2003 pour la Colombie-Britannique était de 4,95 kg. Le ministère de l'Agriculture et des Terres de la Colombie-Britannique a noté que 7,35 kg de benzoate d'émamectine avaient été prescrits en 2003 selon les données qu'il a recueillies auprès des fabriques d'aliments. Ces chiffres donnent à penser qu'une quantité importante de benzoate d'émamectine et d'autres ingrédients de SLICE® pénètre dans l'écosystème entourant les exploitations aquacoles en Colombie-Britannique et dans les eaux au large de la côte ouest du Canada.

Les avantages déclarés de l'utilisation de SLICE® sont le maintien efficace d'une population d'élevage en santé et la réduction du risque que les opérations aquacoles contribuent aux effets négatifs sur les populations sauvages de saumons migrateurs à proximité des exploitations et aient des effets négatifs sur ces populations. Cependant, les collectivités locales et les intervenants (p. ex. Premières Nations, pêcheurs) ont également reconnu que l'utilisation de SLICE® et d'autres agents chimiothérapeutiques constitue une préoccupation

environnementale en raison des effets potentiels sur le milieu benthique environnant et les composantes valorisées de l'écosystème adjacent (bancs coquilliers, populations de crevettes, chaîne alimentaire du saumon).

Dans la dernière décennie, les exploitations salmonicoles en Colombie-Britannique ont augmenté considérablement. Entre 1984 et 1989, le nombre des sites d'élevage dans la province est passé de 10 à 135 et, à tout moment, on compte 80 sites actifs, qui stockent principalement des saumons atlantiques (*Salmo salar*). En 2009, 18 entreprises exploitaient quelque 131 sites couvrant en tout 4 575 hectares en Colombie-Britannique. La quantité de SLICE® utilisée par l'industrie au fil du temps devrait augmenter, car le nombre de sites utilisés pour la salmoniculture augmente constamment.

Le comportement environnemental du benzoate d'émamectine dans l'écosystème entourant les sites de salmoniculture en Colombie-Britannique est en grande partie inexploré. Des études menées ailleurs ont montré que la nature insoluble du benzoate d'émamectine et son affinité pour les matières organiques particulaires entraînent la sédimentation de la majeure partie du produit sur le fond marin, où il devient un risque localisé pour le benthos épifaunique et endofaunique. Les données préliminaires que nous avons tirées de nos récentes études menées en Colombie-Britannique montrent que :

- 1. le benzoate d'émamectine est présent dans la colonne d'eau pendant et après le traitement avec SLICE®;
- 2. le benzoate d'émamectine est présent dans les sédiments de surface pendant et après le traitement jusqu'à 150 m du site de l'exploitation et les concentrations varient selon la dynamique du site;
- 3. le benzoate d'émamectine est détecté dans les sédiments de surface, même un an après le traitement;
- 4. les profils du benzoate d'émamectine dans les carottes de sédiments prélevées près des zones touchées permettent de penser que le benzoate d'émamectine est persistant et qu'il n'y a aucune preuve de décomposition;
- 5. le benzoate d'émamectine est décelé dans les tissus du biote échantillonné près des sites traités:
- 6. lors d'expériences en laboratoire, on a observé des effets sublétaux sur les crevettes tachetées exposées au benzoate d'émamectine à des concentrations pertinentes pour l'environnement.

Le présent rapport n'a pas pour objet de fournir un examen complet du devenir et des effets du benzoate d'émamectine et de ses métabolites dans l'environnement, mais plutôt de présenter les données les plus récentes de notre étude en cours sur ce sujet et de réfléchir aux six facteurs clés cernés dans le paragraphe précédent. Les propriétés physiques et chimiques, de même que l'enregistrement, l'historique d'utilisation et les régimes d'application de ce composé (au Canada et ailleurs) ont été déclarés (Bright et Dionne 2005). De plus, selon les sources publiées, on peut trouver plusieurs méthodes différentes pour la détection et la détermination quantitative du benzoate d'émamectine et de son métabolite déméthylé (BA) dans des échantillons environnementaux (Ikonomou et Surridge 2013; voir ci-après). La figure 1 montre les structures du benzoate d'émamectine et du métabolite déméthylé. Dans le cadre de ce projet, nous avons mis au point une méthode analytique très sensible fondée sur la chromatographie liquide et l'ionisation par électronébulisation et spectrométrie de masse en tandem (CL/IEN-SM/SM) pour déterminer le benzoate d'émamectine et le métabolite déméthylé dans l'eau de mer, les sédiments marins et les échantillons de tissus. La méthode mise au point

était supérieure à toutes les méthodes mentionnées dans les sources publiées sur les plans de la sensibilité et de la polyvalence. Ikonomou et Surridge (2013) décrivent la méthode et comparent son rendement à celui des méthodes existantes. Les références traitant des propriétés physiques et chimiques du benzoate d'émamectine, les méthodes élaborées et utilisées pour la détermination du benzoate d'émamectine dans les échantillons environnementaux et les études toxicologiques associées à ce pesticide sont incluses dans cet article et dans Veldhoen et al. (2012).

Pêches et Océans Canada (MPO) est préoccupé par le rejet de produits chimiques toxiques, comme le benzoate d'émamectine, dans les plans d'eau et par leur impact sur le milieu marin. La compréhension des voies d'exposition des organismes aquatiques au benzoate d'émamectine et à d'autres contaminants représente un aspect important de la recherche du MPO et fournit des preuves qui peuvent être prises en compte par les évaluateurs des risques et les organismes de réglementation des produits chimiques. Les connaissances scientifiques sont nécessaires pour étayer le processus décisionnel et réglementaire éclairé et fondé sur l'écosystème dans le secteur de l'aquaculture.

Les résultats présentés dans ce rapport proviennent d'une étude en cours qui a débuté en 2009 et qui a été menée en collaboration avec plusieurs partenaires, notamment : Pêches et Océans Canada, le Forum du saumon du Pacifique, le ministère de l'Environnement de la Colombie-Britannique, Environnement Canada, l'Université de Victoria, la Pacific Prawn Fishermen's Association, Marine Harvest Canada, ainsi que Mainstream Canada. L'étude porte sur les éléments suivants.

- 1. Le devenir et la concentration du benzoate d'émamectine (BE) et de son métabolite déméthylé dans l'environnement au voisinage de certains sites d'élevage de poissons après l'application de SLICE®. Les deux sites sélectionnés pour l'étude sont indiqués à la figure 2. Les concentrations dans des sédiments localisés et dans la colonne d'eau ont été mesurées, afin de fournir une évaluation des effets possibles sur les fonctions de l'écosystème.
- 2. L'absorption du benzoate d'émamectine et de son métabolite déméthylé par la crevette tachetée, *Pandalus platyceros*, et leurs impacts toxicologiques potentiels sur l'espèce, tant en laboratoire que sur le terrain. Cette double approche fournira un cadre normalisé pour l'évaluation de la toxicité et des conditions environnementales « réelles » auxquelles les mesures de toxicité peuvent être comparées. Les résultats des travaux en laboratoire servent de cadre et de contexte pour évaluer les mesures de terrain. Les effets toxicologiques potentiels sont évalués selon de nouvelles techniques fondées sur la génomique.

Les résultats de ces études constitueront l'évaluation la plus détaillée et la plus complète à ce jour des effets possibles de l'application de SLICE® dans les élevages marins de poissons en cages sur le milieu benthique environnant et les populations résidentes de crevettes. Les concentrations mesurées de benzoate d'émamectine dans l'environnement seront utilisées pour analyser, étalonner et appliquer le modèle DEPOMOD, afin de pouvoir l'utiliser pour prédire le comportement du benzoate d'émamectine dans les écosystèmes aquatiques pertinents. Ces résultats seront utiles pour élaborer une politique de réglementation concernant SLICE®.

# 2. ANALYSE ET RÉPONSE

# 2.1. DANS QUELLE MESURE LE BENZOATE D'ÉMAMECTINE A-T-IL ÉTÉ DOCUMENTÉ DANS LE MILIEU AQUATIQUE ABIOTIQUE AU CANADA?

#### 2.1.1. Eau

Il n'y a pas de données sur les concentrations de benzoate d'émamectine ou de ses métabolites dans la colonne d'eau pendant ou après le traitement avec SLICE® près des piscicultures en milieu marin au Canada. Certains calculs simulés ont été effectués dans la partie inférieure de la baie de Fundy, mais ils portaient sur les agents chimiothérapeutiques appliqués à la colonne d'eau (azaméthiphos, cyperméthrine). Toutefois, on ne peut pas extrapoler leurs résultats au benzoate d'émamectine, qui est administré dans l'alimentation et a des propriétés physico-chimiques très différentes de celles des autres pesticides ou traceurs colorants utilisés dans ces études par simulation.

Pour notre étude, nous avons prélevé des échantillons d'eau non filtrée près des deux fermes salmonicoles traitées à SLICE®. Ces échantillons ont été recueillis dans des récipients ambrés TraceClean de 4 L selon une technique de trempage dans laquelle les bouteilles sont attachées à des seaux sur des perches et immergées à environ 1 ou 2 pieds sous la surface. Le prélèvement des échantillons d'eau a été effectué tous les trois jours pendant le traitement avec SLICE®, puis moins souvent jusqu'à quatre mois après le traitement. Au site A, le prélèvement d'échantillons suivait deux transects s'étendant vers l'est et l'ouest à partir des parcs en filet, à des distances de 0, 30, 60, 100 et 150 mètres (et à une station de référence), confirmées par le logiciel maritime intégré du système de positionnement global (GPS). Des échantillons en trois exemplaires ont été prélevés d'abord à la station de référence, puis de la concentration prévue la plus faible à la plus élevée le long de chaque transect. Au site B, les échantillons d'eau ont été prélevés uniquement à 0 m de l'angle sud-ouest de l'exploitation. Tous les récipients de 4 L étaient entreposés dans des contenants scellés pour le transport. Une fois reçus à l'Institut des sciences de la mer (ISM), ils ont été conservés à -20 °C jusqu'à l'analyse.

On a observé une répartition spatiale distincte des concentrations de benzoate d'émamectine dans les échantillons d'eau, le benzoate d'émamectine diminuant à mesure que la distance du parc en filet augmentait; voir les données présentées à la figure 3. Les concentrations de benzoate d'émamectine du côté ouest et est du site étaient très semblables, ce qui était prévisible compte tenu des profils d'écoulement de l'eau à ce site. Les concentrations de benzoate d'émamectine dans la colonne d'eau étaient les plus élevées pendant le traitement avec SLICE® et sont demeurées élevées plusieurs jours après le traitement; voir les données présentées à la figure 4. Les données illustrées concernent des échantillons prélevés dans le transect ouest, mais les échantillons prélevés dans le transect est avaient des profils semblables. Des traces de benzoate d'émamectine ont été détectées dans les échantillons d'eau jusqu'à environ un mois après le traitement, après quoi nous n'avons observé aucune concentration mesurable lorsque nous avons atteint la limite de détection (LD) de la méthode, qui est de 7 pg/L (définie comme la concentration correspondant à la réponse moyenne plus 3 écarts-types pour un échantillon témoin, d'après une courbe d'étalonnage pondérée en neuf points; voir Ikonomou et Surridge 2013). Comme on le voit à la figure 4, les concentrations de benzoate d'émamectine les plus élevées mesurées dans les échantillons d'eau se comptaient en parties par billion (p.p. 10<sup>12</sup>) ou ng/L, soit environ 500 pg/L. Comme prévu, les concentrations de benzoate d'émamectine les plus élevées ont été détectées à proximité immédiate du parc en filet, c'est-à-dire dans un rayon de 50 m, et diminuaient considérablement à de plus grandes distances; voir la figure 4. Avec le benzoate d'émamectine, nous avons aussi mesuré le métabolite déméthylé dans tous les échantillons examinés. Cependant, toutes les

concentrations du métabolite déméthylé étaient inférieures à la limite de détection de la méthode; voir la figure 3.

Il est clair, d'après les données présentées dans cette section, que des concentrations de benzoate d'émamectine en parties par billion (p.p. 10<sup>12</sup>) sont présentes dans la colonne d'eau pendant le traitement avec SLICE® et plusieurs jours par la suite. Les concentrations sont les plus élevées dans un rayon de 50 mètres de l'exploitation, puis elles diminuent considérablement avec la distance. Aucune concentration mesurable n'a été trouvée un mois après le traitement.

#### 2.1.2. Sédiment

Avant notre étude, il n'existait pas de données fiables du Canada démontrant le devenir environnemental et le transport du benzoate d'émamectine dans le milieu marin. Les résultats d'études menées en Europe indiquent que, pendant et après le traitement avec SLICE®, le benzoate d'émamectine est rejeté dans le milieu marin (soit associé à des aliments excédentaires non consommés par le poisson traité, soit dans la matière fécale excrétée par le poisson) et, du fait de la nature insoluble du composé et de son affinité pour les matières organiques particulaires, il se dépose sur le fond marin sous le site de l'exploitation traitée et autour de celui-ci.

Il y a une dizaine d'années, en 2002, Parker et Mallory (2003) ont prélevé des sédiments à proximité d'une ferme salmonicole dans la baie de Fundy, au Nouveau-Brunswick. Cependant, ils n'ont pas pu mesurer les concentrations de benzoate d'émamectine dans l'échantillon prélevé, car la méthode d'analyse utilisée avait une limite de détection élevée de 0,4 μg/g (c.-à-d. en parties par million). Des données sur le benzoate d'émamectine dans les sédiments sont également disponibles dans d'autres études menées sur la côte est du Canada, mais elles ne sont pas très instructives, car les concentrations déclarées sont proches de la limite de détection de la méthode et, dans presque tous les cas, les méthodes d'analyse utilisées ne sont pas fiables.

Nous avons analysé les échantillons de sédiments de notre étude pour détecter la présence de résidus de benzoate d'émamectine et de métabolite déméthylé à l'aide d'une méthodologie d'analyse d'ultratraces fondée sur des instruments de chromatographie liquide/ionisation par électronébulisation et spectrométrie de masse en tandem (CL/IEN-SM/SM). Les limites de quantification (LQ) réalisables à l'aide de cette méthodologie (définies comme la concentration correspondant à la réponse moyenne plus 10 écarts-types pour un échantillon témoin; voir Ikonomou et Surridge 2013) se situent dans la fourchette des sous-parties par milliard (<p.p. 109). Comme pour les échantillons d'eau, des échantillons de sédiments ont été prélevés à l'aide d'une benne Van Veen exploitée par un treuil embarqué à bord d'un navire. La collecte a eu lieu le long de deux transects s'étendant vers l'est et l'ouest à partir des parcs en filet, à des distances de 0, 30, 60, 100 et 150 mètres (et à une station de référence), confirmées par le logiciel maritime intégré du système de positionnement global (GPS). On a préparé des échantillons benthiques répétés de chaque benne en retirant le premier centimètre supérieur des sédiments et en les stockant dans des récipients ambrés TraceClean de 100 ml. Les échantillons ont d'abord été prélevés à la station de référence, puis de la concentration prévue la plus faible à la plus élevée le long de chaque transect. Au site B, les échantillons de sédiments ont été prélevés à l'aide d'un échantillonneur manuel Van Veen de 10 lb à 0, 100 et 300 mètres au sud-ouest des parcs en filet. Tous les échantillons de sédiments ont été transportés dans des glacières et congelés à -20 °C jusqu'à l'analyse.

La figure 5 présente les concentrations de benzoate d'émamectine mesurées dans les échantillons de sédiments de surface prélevés au site de référence et au site A. Les

concentrations de benzoate d'émamectine mesurées au site de référence étaient proches de la limite de quantification et étaient toujours faibles tout au long de la période d'échantillonnage. Elles étaient les plus élevées sous le parc en filet, c.-à-d. à 00 et E0, la concentration la plus élevée ayant été atteinte à 35 p.p.  $10^9$  (ou ng/g) environ trois semaines après le début du traitement avec SLICE®.

Des concentrations détectables de benzoate d'émamectine ont été mesurées le 15 janvier, quelques jours après le début du traitement, la concentration la plus élevée ayant été mesurée à E0 à 5 p.p. 109. Les concentrations de benzoate d'émamectine dans les sédiments ont augmenté graduellement après le début du traitement, atteignant les concentrations les plus élevées environ trois à quatre semaines après le traitement avec SLICE®, puis diminuant peu à peu au fil du temps. Il est évident, d'après les données, qu'on observe le même profil de concentration de benzoate d'émamectine (en forme de cloche) tout au long de la période d'échantillonnage en tant que fonction de la distance par rapport au parc en filet. Les concentrations les plus élevées sont mesurées dans le voisinage immédiat du parc en filet (de 0 à 60 mètres dans les deux directions) et les concentrations mesurées à 100 et 150 mètres du parc en filet sont très faibles, se rapprochant de la limite de quantification. Les concentrations de benzoate d'émamectine étaient mesurables quatre mois après le traitement et à une distance de 150 mètres de l'exploitation traitée. D'après les profils spatiaux observés, le benzoate d'émamectine pourrait être présent à des distances de plus de 150 mètres, mais à des concentrations plus faibles (p.p. 10<sup>12</sup> ou moins). Ces résultats donnent à penser que le benzoate d'émamectine émergeant des fermes salmonicoles après le traitement avec SLICE® est principalement séquestré dans les sédiments à proximité de la pisciculture, c'est-à-dire dans un rayon de 60 à 100 mètres du site. Les profils du benzoate d'émamectine observés dans les sédiments du site A reflètent étroitement l'accumulation de matières solides à proximité du site. prévue par le modèle DEPOMOD; voir les résultats présentés à la figure 7.

Il est important de noter que quatre mois après le traitement avec SLICE®, il y avait des quantités détectables de benzoate d'émamectine à proximité du site de l'exploitation. Il s'agit d'une découverte unique, car elle ne correspond pas aux résultats d'études similaires menées en Europe et ailleurs. Même s'il est probable que de nouveaux matériaux « exempts de benzoate d'émamectine » (excréments, aliments non consommés pour poissons, etc.) ont été déposés aux endroits échantillonnés après la fin du traitement avec SLICE®, les concentrations mesurées de benzoate d'émamectine étaient étonnamment élevées. La technique d'échantillonnage des sédiments utilisée pourrait expliquer cette situation. Comme mentionné précédemment, les échantillons benthiques de chaque benne ont été préparés en retirant le premier centimètre supérieur des sédiments et en les stockant dans des récipients ambrés TraceClean de 100 ml. Il est possible que dans ce premier centimètre d'échantillon de sédiments, on ait recueilli à la fois de « vieux » matériaux (sédiments contaminés par le benzoate d'émamectine) et des « nouveaux » (sédiments sans benzoate d'émamectine). Nous utilisons actuellement des calculs de modèles mathématiques et des données provenant d'échantillons de carottes de sédiments prélevés à ce site pour mieux comprendre l'origine des concentrations de benzoate d'émamectine détectées dans les sédiments de surface quatre mois après la fin du traitement avec SLICE® au site de cette exploitation.

Selon les conditions océanographiques d'un site donné, les concentrations de benzoate d'émamectine mesurées dans les sédiments correspondants pourraient être très différentes. Les concentrations mesurées dans les sédiments prélevés le long des transects est et ouest du site A étaient considérablement plus élevées que celles mesurées à un endroit différent dans l'archipel Broughton; voir les données présentées à la figure 6. Les deux sites (A et B, voir la figure 2) ont été traités avec des quantités semblables de SLICE®, mais les concentrations mesurées dans les sédiments correspondants avant, pendant et après le traitement avec

SLICE® étaient très différentes. Au site où le débit est élevé (site B), les concentrations de benzoate d'émamectine mesurées même sous le parc en filet (à 0 m) étaient très faibles et proches des limites de détection de la méthode. La même chose s'est produite à tous les intervalles de temps où des échantillons ont été prélevés à cet endroit. On peut déduire des données que dans les sites où le débit est élevé, comme le site B, les particules contenant du benzoate d'émamectine sont « emportées » par les courants et que des quantités minimales de benzoate d'émamectine se trouvent dans les sédiments sous les parcs en filet, alors que l'inverse semble être vrai pour les sites où le débit est faible, comme le site A.

# 2.2. QUELLE EST LA QUANTITÉ DE BENZOATE D'ÉMAMECTINE QUI ABOUTIT DANS LES SÉDIMENTS APRÈS UN CYCLE COMPLET DE TRAITEMENT AVEC SLICE® À UN ENDROIT PRÉCIS?

Voici une ordonnance type de SLICE® pour lutter contre le pou du poisson sur une biomasse donnée de saumon atlantique d'élevage en Colombie-Britannique :

Inventaire de l'exploitation : 280 000 saumons atlantiques

Poids moyen : 2,50 kgBiomasse : 702 800 kg

• Dose : 50 ug de benzoate d'émamectine par kg de biomasse de

poisson par jour pendant 7 jours

Quantité totale de BE utilisée : 124,9 kg de prémélange de SLICE® à 0,2 % (~250 g de

benzoate d'émamectine)

En supposant que la plus grande partie du benzoate d'émamectine est répartie dans le premier centimètre supérieur des sédiments et dans un rayon de 100 m du parc en filet, on peut calculer le volume total de sédiments contaminés par le benzoate d'émamectine. Sachant que le premier centimètre de sédiments a une humidité moyenne de 50 %, le volume de sédiments est ensuite converti en poids sec de sédiments. D'après les concentrations de benzoate d'émamectine dans les sédiments tirées de cette étude, nous pouvons supposer une concentration moyenne de benzoate d'émamectine de 7 p.p.  $10^9$  (ng/g) dans le rayon de 100 m. En gros, on obtient un bilan total de 2,8 g de benzoate d'émamectine dans le premier centimètre de sédiments. Ce calcul était fondé sur les données d'un site où le débit est faible (le site A). D'après les renseignements tirés de cette étude, il semble que jusqu'à 1 % du benzoate d'émamectine utilisé dans un seul traitement avec SLICE® à une exploitation typique aboutira dans les sédiments à proximité immédiate (dans un rayon de 100 m) du site de la ferme.

# 2.3. DANS QUELLE MESURE LE BENZOATE D'ÉMAMECTINE A-T-IL ÉTÉ DÉCELÉ DANS LE BIOTE AQUATIQUE AU CANADA?

L'absorption du benzoate d'émamectine (l'ingrédient actif de SLICE®) et de son métabolite déméthylé par des organismes non ciblés et leurs effets potentiels sur la santé de ces organismes, en particulier les espèces benthiques, préoccupent plusieurs groupes d'intervenants. Ces préoccupations découlent généralement de rapports indiquant que, pendant et après le traitement avec SLICE®, le benzoate d'émamectine est rejeté dans le milieu marin (soit associé à des aliments excédentaires non consommés par le poisson traité, soit dans la matière fécale excrétée par le poisson) et, du fait de la nature insoluble du composé et de son affinité pour les matières organiques particulaires, il se dépose sur le fond marin sous le site de l'exploitation traitée et autour de celui-ci. Étant donné que l'organisme cible (pou du poisson) appartient au même sous-phylum que d'autres espèces ayant une valeur commerciale et que le

mode d'action spécifique du produit chimique comporte une interaction avec un processus de transmission nerveuse commun au phylum, il est possible que l'effet d'un traitement avec SLICE® s'étende au-delà du site de l'exploitation. Des études antérieures sur cette question (p. ex. la surveillance annuelle de l'agence écossaise de protection de l'environnement) ont révélé des concentrations détectables de benzoate d'émamectine (et d'autres agents chimiothérapeutiques) dans les sédiments échantillonnés près des sites de salmoniculture. On a décelé le benzoate d'émamectine chez des crustacés immédiatement après le traitement avec SLICE® et chez des organismes charognards plusieurs mois après le traitement; cependant, l'absorption par les organismes benthiques résidents et les effets potentiels sur ceux-ci ne sont pas clairs.

Dans cette étude, nous avons examiné l'absorption du benzoate d'émamectine et de son métabolite déméthylé par la crevette tachetée (*Pandalus platyceros*) et leurs impacts toxicologiques potentiels sur l'espèce, tant en laboratoire que sur le terrain. Nous avons choisi les crevettes tachetées pour cette étude parce qu'il s'agit d'une espèce d'invertébré marin qui revêt une importance commerciale importante dans l'Ouest canadien.

Les expériences d'exposition en laboratoire ont été menées dans des conditions reproduisant l'environnement naturel au voisinage des fermes salmonicoles après un traitement avec SLICE®. L'objectif de ces expériences était de fournir les données nécessaires pour évaluer les effets biologiques potentiels du benzoate d'émamectine sur les crevettes sur le terrain, et de formuler ainsi la base d'une étude sur le terrain et d'une évaluation des risques. Des détails sur la structure et la mise en œuvre de l'étude en laboratoire sont fournis à l'annexe A. Dans cette étude en laboratoire, nous avons examiné en détail l'absorption du benzoate d'émamectine et de son métabolite déméthylé par la crevette tachetée et leurs effets biologiques sur l'espèce. Des sédiments marins propres ont été enrichis de benzoate d'émamectine à diverses concentrations (entre les p.p. 109 et de faibles ppm) et les crevettes ont été exposées pendant une vaste gamme de périodes (jusqu'à 8 jours) et de concentrations. Des échantillons représentatifs d'eau, de sédiments et de crevettes ont été prélevés au début et à des intervalles prédéterminés tout au long de l'expérience. Nous les avons analysés pour détecter le benzoate d'émamectine et le métabolite déméthylé afin d'évaluer la concentration dissoute et, par conséquent, la biodisponibilité du benzoate d'émamectine. On sait que le benzoate d'émamectine se lie aux particules, mais selon les conditions environnementales, une fraction peut se dissoudre dans la colonne d'eau. À la suite de l'exposition, nous avons examiné les crevettes pour déterminer les effets toxicologiques potentiels selon de nouvelles techniques fondées sur la génomique. Nous avons examiné l'ARNm des organismes et l'avons analysé pour déceler certaines transcriptions géniques afin de déterminer si la mue, la reproduction, le stress et d'autres indicateurs d'effets sublétaux étaient modifiés en présence de benzoate d'émamectine. Les résultats des travaux de génomique ont été résumés dans un manuscrit paru dans des sources publiées (Veldhoen et al. 2012).

Afin de déterminer la charge tissulaire en benzoate d'émamectine chez les animaux exposés, nous avons examiné les crevettes tachetées exposées à des concentrations nominales croissantes de benzoate d'émamectine en vue de déceler la présence de l'insecticide et de son métabolite dans les tissus musculaires après 8 jours de traitement. Même à ces périodes d'exposition relativement courtes, des concentrations importantes (jusqu'à 100 p.p. 10<sup>9</sup>) de benzoate d'émamectine ont été mesurées dans les tissus des animaux exposés. Plusieurs échantillons individuels de crevettes ont été analysés pour chacune des expositions et les valeurs moyennes et les données d'écart-type tirées des mesures sont présentées à la figure 8. Pour toutes les expériences en laboratoire, des échantillons de sédiments et de l'eau sus-jacente ont été prélevés et analysés pour chacun des réservoirs utilisés dans les expériences. Dans tous les cas, des quantités mesurables de benzoate d'émamectine ont été

observées dans la colonne d'eau. À titre d'exemple, une exposition de 8 jours à du benzoate d'émamectine associé à 100 p.p. 10<sup>9</sup> de sédiments entraîne environ 0,5 p.p. 10<sup>9</sup> de benzoate d'émamectine dans l'eau de mer sus-jacente et 0,45 ± 0,15 p.p. 10<sup>9</sup> (μg/kg de poids sec) de benzoate d'émamectine dans le tissu musculaire de la crevette tachetée. L'objectif de ces mesures était d'établir une compréhension globale de la répartition du benzoate d'émamectine (sédiments et eau) pendant les expériences d'exposition et de postuler des voies potentielles d'absorption du benzoate d'émamectine par la crevette tachetée. Le métabolite déméthylé du benzoate d'émamectine a également été mesuré dans tous ces échantillons et sa pertinence par rapport aux concentrations mesurées de benzoate d'émamectine est abordée plus loin dans le présent document.

Dans l'étude sur le terrain, nous avons examiné l'absorption du benzoate d'émamectine et de ses métabolites par les populations locales de crevettes et leurs effets biologiques sur ces populations à proximité de deux fermes salmonicoles après l'application de SLICE®. Les crevettes élevées en liberté et les crevettes confinées ont été examinées.

# 2.3.1. Échantillons de crevettes sauvages

Les crevettes ont été prélevées selon des méthodes commerciales normalisées qui consistent, en résumé, à déployer sur le fond de l'océan des casiers appâtés avec des aliments granulés pour saumon pendant de courtes périodes (de 3 à 48 h). Les emplacements d'échantillonnage au site de la ferme ont été déterminés avec précision au moven d'un logiciel de navigation maritime intégré au GPS. Un bateau de pêche commerciale de la crevette a déployé et récupéré les casiers sur le fond à l'aide d'un cordage et d'un treuil. Avec une cible de 6 crevettes par site, nous échantillonnions rapidement la génomique des crevettes capturées vivantes de la facon suivante : retrait du premier segment abdominal et excision d'une petite section dorsale de tissu (1 cm x 5 mm) à l'aide d'un scalpel. Les échantillons excisés ont été immédiatement stockés dans une solution d'ARN-Later et conservés sur de la glace pendant 24 heures avant d'être congelés. Le reste du tissu des crevettes a été conservé dans des sacs Ziploc et rangé en prévision de l'analyse de détection du benzoate d'émamectine. Le prélèvement de crevettes au site A eu lieu à des distances précises (0, 100 et 300 mètres) le long d'un transect s'étendant vers l'ouest à partir de la ferme afin de suivre les directions est-ouest du courant à cet endroit. Les crevettes témoins ont été récoltées à un site éloigné de la ferme.

#### 2.3.2. Échantillons de crevettes confinées

En plus de la collecte chronométrée de crevettes sauvages, un casier de confinement contenant des crevettes vivantes a été déployé immédiatement sur le périmètre du parc (0 m). Les casiers à crevettes standards (2 pi x 2 pi x 8 po) ont été conçus comme des casiers de confinement en scellant les points d'entrée pour empêcher l'entrée et l'évasion des crevettes. Un confinement à 0 mètre nous permettait d'examiner les crevettes exposées à une zone de dépôt élevé à proximité de la ferme et de contrôler le déplacement des crevettes (puisque les crevettes sauvages sont libres d'entrer et de sortir des zones de dépôt). De plus, les pêcheurs commerciaux ont observé que les concentrations de crevettes diminuent près des sites des fermes salmonicoles pendant le traitement avec SLICE®; les casiers de confinement garantissaient ainsi la collecte d'échantillons. Une centaine de crevettes ont été recueillies au site témoin et déployées dans un casier de confinement à la ferme, sur le fond de l'océan. Un casier de confinement contenant environ 100 crevettes a également été déployé au site témoin et représentait les crevettes témoins pour les échantillons sauvages et les échantillons confinés. Les crevettes ont été échantillonnées dans chacun des casiers de confinement aux mêmes intervalles et de la même façon que les crevettes sauvages. Une partie de l'échantillonnage des

casiers de confinement a posé des problèmes imprévus aux sites A et B, et nous n'avons pas réussi à obtenir tous les échantillons prévus.

Des crevettes élevées en liberté et des crevettes confinées ont été prélevées dans le cadre de l'étude sur le terrain aux deux sites (A et B) qui ont été traités avec SLICE®, ainsi qu'aux sites de référence et témoins. Ces données ont été recueillies à différents intervalles et à des moments qui reflétaient avant, pendant et après le traitement avec SLICE®. Cette stratégie d'échantillonnage visait à prélever des échantillons d'eau, de sédiments et de crevettes à des endroits prédéterminés et en même temps. Au total, plusieurs douzaines d'échantillons de tissus musculaires de crevettes sauvages ont été analysés; les concentrations moyennes de benzoate d'émamectine obtenues pour chacun des emplacements ou des périodes d'échantillonnage sont présentées sur les figures 9 et 10. Les concentrations de benzoate d'émamectine ont été mesurées dans tous les échantillons examinés, mais elles se situaient généralement dans la plage des concentrations faibles en parties par milliard. Les concentrations de benzoate d'émamectine mesurées dans les crevettes des sites témoins se situaient dans la plage des sous-parties par milliard et près de la limite de détection de la méthode (LD). Il est important de noter que les concentrations de benzoate d'émamectine mesurées chez les crevettes sauvages étaient considérablement inférieures à celles qui ont été examinées dans les études d'exposition en laboratoire; voir les données présentées à la figure 8.

Comme pour les échantillons de sédiments, les concentrations de benzoate d'émamectine chez les crevettes prélevées au site A à faible débit (voir les données à la figure 9) étaient plus élevées que chez celles recueillies au site B à fort débit (voir les données à la figure 10). Des concentrations de benzoate d'émamectine supérieures à la LD ont été mesurées dans certains des échantillons du site témoin associé au site B. Après évaluation des données sur les sédiments et le biote recueillies à ce site et compte tenu de la dynamique du débit d'eau de cette zone générale, il semble que cet emplacement, bien qu'à quelque 500 m du site B, pourrait subir l'influence du « panache organique » provenant du parc en filet du site B.

Comme pour l'étude en laboratoire, nous avons examiné l'ARNm d'un grand nombre d'échantillons de tissus représentatifs et l'avons analysé pour déceler certaines transcriptions géniques afin de déterminer si la mue, la reproduction, le stress et d'autres indicateurs d'effets sublétaux étaient modifiés en présence de benzoate d'émamectine. Malheureusement, en raison du grand nombre de variables associées à l'étude sur le terrain et des difficultés rencontrées pour obtenir tous les échantillons souhaités sur le terrain, les données génomiques ne sont pas concluantes. Notre objectif était de répéter l'étude sur le terrain pendant les traitements au SLICE® de 2010-2011 dans les exploitations, mais nous n'avons pas été en mesure d'atteindre cet objectif. Afin d'ajouter de la valeur aux données génomiques déjà obtenues et d'obtenir une meilleure perspective des effets biologiques potentiels de SLICE® sur les crevettes tachetées, nous tenterons de répéter l'étude sur le terrain.

# 2.4. LE BENZOATE D'ÉMAMECTINE EST-IL TOXIQUE POUR LE BIOTE AQUATIQUE?

Les données présentées dans la section précédente montrent clairement que le benzoate d'émamectine est biodisponible et qu'il s'accumule dans les tissus musculaires des crevettes tachetées recueillies à proximité des fermes salmonicoles traitées au SLICE®. Il s'agit de la première découverte de ce genre au Canada et elle constitue le fondement d'une évaluation plus approfondie pour pouvoir évaluer complètement la bioaccumulation, la bioamplification, la voie d'absorption et les effets biologiques potentiels du benzoate d'émamectine et de ses métabolites chez la crevette tachetée, une espèce de valeur commerciale de la côte ouest du Canada.

Les données obtenues à partir des expériences d'exposition en laboratoire ont montré que des niveaux importants de benzoate d'émamectine ont été détectés dans les tissus musculaires de la queue de tous les animaux exposés. Les animaux sélectionnés pour l'expérience ne portaient pas d'œufs et avaient un poids semblable. On a observé une mortalité importante dans les 8 jours suivant le traitement avec du benzoate d'émamectine à des concentrations comprises entre 0,1 et 0,8 mg/kg; le benzoate d'émamectine n'a eu aucun effet sur la mue. Plusieurs nouvelles séquences d'ADNc de la crevette ont été isolées du muscle de la gueue par clonage dirigé et hybridation soustractive des tissus témoins par rapport aux tissus exposés au benzoate d'émamectine. Les analyses par PCR quantitative ont révélé des altérations notables des concentrations d'ARNm codant la protéine ribosomale 60S L22, la phosphoénolpyruvate carboxylase, l'ARN hélicase de type WM6 du splicéosome, une petite protéine de choc thermique, et la protéine de liaison nucléotidique 1 de la triade de l'histidine du médiateur de signal intracellulaire. L'expression différentielle de ces transcriptions d'ARNm permet de penser que la synthèse des protéines, la gluconéogenèse, la localisation et l'épissage de l'ARN, la régulation de la transcription. l'apoptose et les voies de stress ont pu être touchés. Le traitement avec du benzoate d'émamectine n'a pas eu d'effet sur l'ARNm codant l'enzyme de la mue, la ß-N-acétylglucosaminidase. Toutefois, l'expression de cette transcription était extrêmement variable, ce qui la rend inappropriée pour l'évaluation des effets. Selon les résultats, l'exposition à court terme au benzoate d'émamectine peut avoir des effets sur ce crustacé non ciblé. Veldhoen et ses collaborateurs (2012) traitent de tous les détails de notre étude sur les effets biologiques du benzoate d'émamectine sur la crevette tachetée évalués par des approches génomiques.

Dans une autre étude d'exposition en laboratoire, nous avons examiné la toxicité aiguë du benzoate d'émamectine et du métabolite déméthylé sur un organisme non ciblé, *Eohaustorius estuaries*, un crustacé amphipode. Ces résultats ont été décrits dans une publication récente de Kuo *et al.* (2010). Les valeurs de la CL50 à 10 jours pour le benzoate d'émamectine et le métabolite déméthylé (c.-à-d. les concentrations requises pour tuer 50 % des animaux de laboratoire dans un délai de 10 jours) étaient de 0,185 et de 0,019 mg/kg de sédiments de poids humide (0,146 et 0,015 mg/kg de poids sec), respectivement, pour *E. estuaries* et on n'a observé aucune courbe de décomposition évidente pour le benzoate d'émamectine ou le métabolite déméthylé pendant les 10 jours.

Des chercheurs d'autres régions du monde où le SLICE® est utilisé dans l'aquaculture des poissons à nageoires ont mené des études toxicologiques de l'impact du benzoate d'émamectine sur des espèces autres que celles décrites précédemment. Toutefois, elles ne sont pas toujours directement pertinentes pour les espèces résidentes qui se trouvent dans les zones côtières du Canada et ne sont pas abordées dans le présent rapport. De plus, les publications examinées par les pairs ne contiennent pas de rapport où l'on peut trouver des données fiables sur les concentrations environnementales de benzoate d'émamectine (dans l'eau, les tissus ou le biote) et des données toxicologiques directement liées aux mesures chimiques. Bien que les collectivités locales et les intervenants aient déterminé que l'utilisation de SLICE® constitue une préoccupation environnementale en raison des effets potentiels sur le milieu benthique environnant et les composantes valorisées des écosystèmes adjacents (p. ex. bancs coquilliers, populations de crevettes, chaîne alimentaire du saumon), à ce jour, très peu de données fiables ont été générées pour répondre à ces préoccupations.

# 2.5. DANS QUELLE MESURE LE BENZOATE D'ÉMAMECTINE EST-IL STABLE OU PERSISTANT DANS L'ENVIRONNEMENT?

Des études antérieures sur le potentiel de bioaccumulation du benzoate d'émamectine chez le crapet arlequin (Chukwudebe et al. 1996) ont signalé que le métabolite déméthylé était un

métabolite majeur détecté après une étude d'exposition de 28 jours. De plus, une étude distincte (Kim-Kang *et al.* 2004) utilisant des saumons atlantiques a indiqué une conversion de 0 à 17 % du benzoate d'émamectine marqué [3H] en métabolite déméthylé, pendant une surveillance sur une période de 90 jours suivant la dose finale. Ces études indépendantes déclarent toutes deux que le métabolite déméthylé est le principal produit de la décomposition du benzoate d'émamectine. Une évaluation environnementale du métabolite déméthylé en plus du benzoate d'émamectine est donc essentielle pour mesurer les concentrations dans l'environnement. Le benzoate d'émamectine est en grande partie excrété non métabolisé dans les matières fécales dans la journée qui suit le traitement; cependant, les concentrations dans les tissus diminuent lentement, ce qui devrait prolonger l'efficacité du benzoate d'émamectine contre le pou du poisson.

L'un des objectifs de notre étude était de mesurer, en même temps que le benzoate d'émamectine, le métabolite déméthylé dans tous les échantillons prélevés. Le principe sousjacent de cette idée était d'évaluer la décomposition potentielle du benzoate d'émamectine en son métabolite principal dans les trois milieux environnementaux examinés (eau, sédiments et biote) en tant que fonction du temps. Comme mentionné précédemment, aucune concentration mesurable de métabolite déméthylé n'a été décelée dans les échantillons d'eau examinés; cependant, des concentrations mesurables ont été observées dans les échantillons de tissus et de sédiments. En traçant les concentrations de benzoate d'émamectine et de métabolite déméthylé à l'aide de tous les échantillons de sédiments et de tissus prélevés sur le terrain, nous avons obtenu des corrélations importantes dans les deux cas avec des valeurs R2 de 0,521 et 0,465, respectivement. Pour évaluer la conversion potentielle du benzoate d'émamectine en métabolite déméthylé au fil du temps, nous avons tracé le ratio de concentration BABE en fonction du temps pour les échantillons de sédiments et de tissus (figures 11 à 14). Les échantillons de sédiments révèlent une augmentation des concentrations de métabolite déméthylé par rapport au benzoate d'émamectine en tant que fonction du temps; voir les données présentées à la figure 11. La même tendance se dégage dans les échantillons de tissus de crevettes, en particulier ceux prélevés dans les casiers de confinement sous le parc en filet du site A; voir les données présentées à la figure 12. Les crevettes des casiers de confinement affichaient des concentrations de métabolite déméthylé semblables à celles recueillies à moins de 10 m du parc en filet du site A, mais le ratio BA:BE des échantillons de ce dernier n'a pas augmenté aussi fortement au fil du temps que celui des crevettes confinées; voir les données présentées à la figure 13. Les concentrations de métabolite déméthylé chez les crevettes recueillies au site de référence étaient environ 10 fois plus faibles que chez les crevettes du site A, pour lesquelles le ratio BABE n'a pas changé au fil du temps; voir les données présentées à la figure 14. La plus forte augmentation de la concentration de métabolite déméthylé dans le temps a été observée chez les crevettes qui se trouvaient sous le parc en filet du site A; voir la figure 12. D'après les concentrations de métabolite déméthylé mesurées dans les sédiments correspondants, il est clair que ces animaux ont également été exposés à des concentrations de métabolite déméthylé en p.p. 109. D'après les profils BABE observés sur les figures 11 et 12 et les profils du métabolite déméthylé restant dans les tissus de crevettes. les données donnent à penser que les crevettes tachetées ne semblent pas convertir une grande quantité du benzoate d'émamectine composé d'origine en son métabolite déméthylé sur une période d'exposition de 4 mois.

D'après les données recueillies dans le cadre de cette étude, en particulier les données sur les sédiments, on peut dire a) que le benzoate d'émamectine est persistant dans le milieu marin et b) qu'aucune quantité importante de benzoate d'émamectine n'est convertie en métabolite déméthylé dans les conditions de l'étude. Les données illustrées sur les figures 5 et 6 montrent clairement que le benzoate d'émamectine est présent dans les sédiments à proximité des sites traités avec SLICE® environ 4 mois après le traitement. Les concentrations ont diminué au fil du

temps après le traitement, mais ces données ne montrent pas si la diminution observée était attribuable à la décomposition du benzoate d'émamectine en un métabolite ou à la dilution, c.-à-d. à un nouveau dépôt de matière organique au-dessus de la matière organique contenant le benzoate d'émamectine. Les techniques d'échantillonnage que nous avons utilisées pour prélever les sédiments dans cette étude ne permettent pas une telle différenciation.

Les saumons de ce site ont été récoltés presque au moment où nous avons prélevé les derniers échantillons du site A (c.-à-d. cinq mois après le traitement SLICE®) et les parcs en filet n'ont pas été empoissonnés à nouveau. Environ un an après la récolte des poissons du site A, nous avons réexaminé cet emplacement et collecté des échantillons de sédiments exactement aux mêmes emplacements que lors de la campagne d'échantillonnage précédente. En même temps, nous avons également prélevé des échantillons de sédiments au site B et à d'autres sites dans la zone générale où la salmoniculture est très présente. Les échantillons des sites et les concentrations correspondantes mesurées de benzoate d'émamectine sont présentés à la figure 16. Il y avait des concentrations mesurables de benzoate d'émamectine dans les sédiments du site A un an et demi après le traitement avec SLICE®. Les concentrations mesurées lors de la dernière campagne d'échantillonnage avaient diminué par rapport à celles mesurées l'année précédente, mais le benzoate d'émamectine était toujours présent dans les sédiments. Le benzoate d'émamectine a été décelé dans les sédiments de tous les autres sites échantillonnés, dont aucun n'était un site actif avec des saumons dans les parcs en filet. De plus, les ratios BABE mesurés dans ces échantillons (données non présentées) n'étaient pas différents des ratios présentés à la figure 11. Ces données montrent clairement que le benzoate d'émamectine est persistant dans les sédiments pendant de longues périodes et qu'il ne se métabolise pas en métabolite déméthylé. Il convient de noter ici qu'il n'y a pas de données dans les sources publiées qui montrent le devenir environnemental du benzoate d'émamectine dans les sédiments marins. Les données de ce genre sont essentielles, car elles servent de base aux évaluations des risques.

# 2.6. DES RECHERCHES SONT-ELLES NÉCESSAIRES POUR INFORMER LES GESTIONNAIRES SUR LE DEVENIR DU BENZOATE D'ÉMAMECTINE ET SES EFFETS DANS LE MILIEU AQUATIQUE CANADIEN?

- Recherche sur les effets toxicologiques du benzoate d'émamectine sur les crevettes tachetées, y compris la mortalité apparente à des concentrations plus faibles de benzoate d'émamectine et l'absence d'une relation dose-réponse (qui peut refléter d'autres causes de mortalité comme un traumatisme ou le cannibalisme). Ce travail comprendrait une répétition des études sur le terrain et d'exposition menées précédemment, dans le but de combler des lacunes dans les données de la première étude et d'utiliser pleinement les données génomiques nouvelles et existantes, ce qui pourrait aider à comprendre les mécanismes à l'origine des effets (sub)létaux, ainsi que l'exposition chronique et les études d'exposition durant tout le cycle biologique.
- Recherche sur les mécanismes d'absorption du benzoate d'émamectine chez les crevettes tachetées.
- Recherche sur les effets sur la santé préoccupants pour la santé des populations, y compris le développement et le comportement neurologiques, la fonction immunitaire et la résistance aux maladies, la santé reproductive, ainsi que la croissance, la reproduction et la survie de la crevette tachetée.
- Recherche sur la vulnérabilité comparative des espèces autres que la crevette tachetée au benzoate d'émamectine et l'influence des paramètres du sexe, de l'âge et du cycle biologique.

- Recherche sur la répartition spatiale et les bilans du benzoate d'émamectine et du métabolite déméthylé dans les régions où la salmoniculture a eu lieu.
- Recherche sur la toxicité du benzoate d'émamectine dans le contexte de multiples agents de stress dans l'environnement, y compris la présence d'autres contaminants, les changements de la structure du réseau trophique et les changements climatiques.
- Recherche sur la décomposition et les voies métaboliques du benzoate d'émamectine dans le milieu marin, y compris l'identification de tous les métabolites autres que le métabolite déméthylé.
- Recherche sur la persistance et la stabilité du benzoate d'émamectine dans l'environnement afin d'établir son temps de séjour, sa décomposition et ses produits métabolites dans les réseaux trophiques aquatiques des régions touchées.
- Recherche sur le transport spatial du benzoate d'émamectine loin des piscicultures vers des zones d'habitat essentiel ou d'habitat de fraie du biote aquatique.
- Élaborer des modèles pour prédire la répartition du benzoate d'émamectine dans le milieu aquatique après un cycle complet du traitement avec SLICE® dans les sites d'aquaculture de poissons à nageoires.
- Utiliser les données provenant des études toxicologiques pour calculer les facteurs de bioaccumulation et de bioamplification et élaborer des lignes directrices sur les sédiments pour le benzoate d'émamectine, ses métabolites et les produits de sa décomposition.

#### 3. CONCLUSIONS

L'objectif de ce projet était de générer une composante des connaissances scientifiques sur le comportement environnemental du benzoate d'émamectine. Ces connaissances sont nécessaires pour étayer le processus décisionnel et réglementaire éclairé et fondé sur l'écosystème dans le secteur de l'aquaculture, aux niveaux fédéral et provincial. Les principales conclusions à tirer de cette évaluation sont les suivantes.

- Une étude sur le traitement avec SLICE® effectué dans deux sites a permis d'établir que les concentrations de benzoate d'émamectine dans les sédiments de surface se situaient entre 0,12 p.p. 10º (limite de quantification ou LQ de la méthode d'analyse) et 35 p.p. 10º dans un rayon de 150 m entourant ces sites. Les concentrations de benzoate d'émamectine dans les sédiments du site B étaient nettement plus faibles qu'au site A, ce qui peut être attribué aux conditions hydrodynamiques et biophysiques différentes sur les deux sites.
- On a trouvé du benzoate d'émamectine dans les sédiments de surface où le SLICE® avait été utilisé. Des résidus de benzoate d'émamectine, de l'ordre de 3 p.p. 10<sup>9</sup>, ont persisté dans les sédiments autour du site A pendant une période prolongée (plus d'un an et demi). Le site B et quatre sites avoisinants ont également été échantillonnés en même temps et les concentrations de benzoate d'émamectine se situaient entre 0,12 p.p. 10<sup>9</sup> (méthode de la limite de quantification) et 6,5 p.p. 10<sup>9</sup>. Lors des prochains travaux, il est recommandé de relier l'historique d'utilisation du SLICE® au profil des sédiments dans ces fermes salmonicoles et d'autres en Colombie-Britannique.
- La conversion du benzoate d'émamectine en son produit de conversion principal, le métabolite déméthylé, a été constatée dans les sédiments recueillis sur le site A. Les concentrations de métabolite déméthylé étaient de 30 % inférieures aux concentrations de benzoate d'émamectine mesurées dans le même échantillon sur une période de 115 jours

- suivant le traitement avec SLICE®. Ce ratio n'a pas changé dans les échantillons prélevés jusqu'à un an et demi plus tard sur le site A ou sur d'autres sites soumis à une évaluation.
- On a décelé du benzoate d'émamectine dans les échantillons d'eau subsuperficielle à des concentrations comprises entre 0,006 p.p. 10<sup>12</sup> (méthode de la limite de quantification) et 0,635 p.p. 10<sup>12</sup> aux deux sites de l'étude pendant le traitement avec SLICE®. Le benzoate d'émamectine semblait se dissiper rapidement au fil du temps et n'a pas été décelé dans l'eau subsuperficielle 4 à 5 semaines après le traitement. On n'a pas décelé de métabolite déméthylé dans les échantillons d'eau.
- On a mesuré du benzoate d'émamectine à des concentrations se situant entre 0,09 p.p. 10<sup>9</sup> (méthode de la limite de quantification) et 3,1 p.p. 10<sup>9</sup> dans le tissu musculaire des crevettes tachetées récoltées à proximité des fermes salmonicoles traitées au SLICE® plus de 100 jours après le traitement. On a également décelé du métabolite déméthylé à une concentration d'environ 30 % de celle du benzoate d'émamectine.
- Les examens de crevettes tachetées en laboratoire dans des conditions statiques d'aquarium montrent qu'une exposition de courte durée (8 jours) à des sédiments contenant plus de 100 p.p. 109 de benzoate d'émamectine peut altérer l'expression de gènes spécifiques (profils d'abondance dans l'ARNm) dans le tissu musculaire. Il a été impossible d'établir des liens directs entre ces études et les mesures sur le terrain du benzoate d'émamectine dans l'eau, les sédiments ou le biote. De plus, les recherches comportant des mesures toxicologiques standards (CMENO, CSENO, CL50), différents stades du cycle biologique (p. ex. avant la mue) et des concentrations pertinentes pour l'environnement sont nécessaires pour déterminer les effets du benzoate d'émamectine sur les crevettes et d'autres organismes sensibles, les pêches et les écosystèmes.
- L'analyse de l'expression génétique a été effectuée sur des crevettes sauvages et confinées recueillies près de sites de salmoniculture. Toutefois, on n'a pas suffisamment d'information pour interpréter les résultats de ces analyses. Il est recommandé d'entreprendre d'autres travaux sur l'expression génétique.
- Les techniques d'échantillonnage disponibles étaient adéquates pour une étude menée initialement dans le but d'évaluer le devenir du benzoate d'émamectine. Parmi les recommandations visant les futures études figurent une plus grande utilisation du modèle DEPOMOD de suivi des particules et des stratégies d'échantillonnage qui procureront un complément d'information (y compris les concentrations de benzoate d'émamectine dans les particules en suspension et les eaux de fond) pour déterminer les concentrations de benzoate d'émamectine dans l'environnement et son devenir.
- La chromatographie liquide spectrométrie de masse en tandem offre la sensibilité, la spécificité et la précision requises pour mesurer le benzoate d'émamectine, le métabolite déméthylé et d'autres substances chimiques préoccupantes dans les échantillons environnementaux et biologiques. Les chercheurs du MPO ont accès à cette technologie par le biais du Laboratoire d'expertise pour l'analyse chimique aquatique (LEACA) à l'Institut des sciences de la mer, à Sidney, en Colombie-Britannique.

Les conclusions de cette évaluation montrent que (i) le benzoate d'émamectine peut persister et, en conséquence, qu'il pourrait s'accumuler dans les sédiments près des fermes salmonicoles, selon l'étendue et la fréquence d'utilisation du SLICE® et les conditions locales sur le site; (ii) le benzoate d'émamectine est également biodisponible et on peut le mesurer dans les tissus musculaires des crevettes tachetées récoltées près des fermes salmonicoles qui ont été traitées au SLICE®. Le benzoate d'émamectine rejeté dans l'environnement après l'application de SLICE® se dissipe rapidement et presque tout le benzoate d'émamectine qui

atteint les sédiments benthiques reste localisé à une courte distance (150 m) du site de la ferme d'élevage. Cependant, il n'a pas été possible d'extrapoler les mesures effectuées aux deux sites d'étude à d'autres sites d'aquaculture en Colombie-Britannique, car les données sont insuffisantes pour déterminer la relation entre les conditions du site et le devenir environnemental du benzoate d'émamectine ou son impact potentiel sur les pêches et les écosystèmes. Il faudra effectuer d'autres recherches pour évaluer la persistance du benzoate d'émamectine dans les écosystèmes aquatiques, de même que la bioaccumulation et les effets biologiques potentiels du benzoate d'émamectine et de ses métabolites sur les crevettes tachetées et sur d'autres organismes non ciblés.

#### 4. FIGURES

Benzoate d'émamectine, 4"-désoxy-4"-(méthylamino)avermectine B1, sel de benzoate BE1a, R= $C_2H_5$ , majeur > 90 % BE1b, R-  $CH_3$ , mineur < 10 %

Métabolite déméthylé, 4"-désoxy-4"-épi-amino-avermectine B1, sel de benzoate BA1a R=CH<sub>2</sub>H<sub>5</sub>, majeur > 90 % BA1b R=CH<sub>3</sub>

Figure 1. Structures du benzoate d'émamectine (BE) et de son métabolite déméthylé (BA).

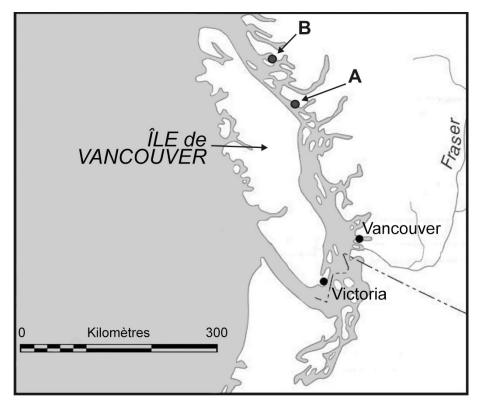


Figure 2. Emplacement des fermes salmonicoles (A et B) qui ont été traitées au SLICE® et où des échantillons d'eau, de sédiments et de tissus ont été prélevés pour cette étude.

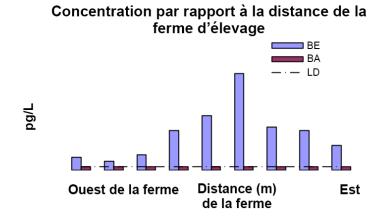


Figure 3. Concentrations de benzoate d'émamectine et de métabolite déméthylé dans les échantillons d'eau prélevés au site A le troisième jour du traitement de 7 jours au SLICE®.

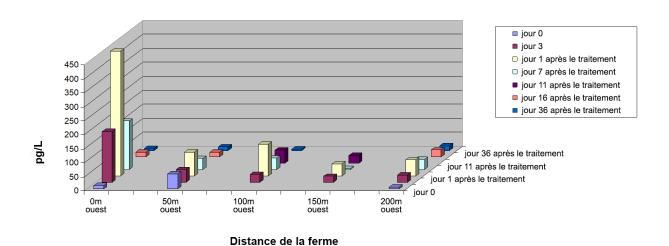


Figure 4. Concentrations de benzoate d'émamectine mesurées dans les échantillons d'eau prélevés dans le transect ouest à différentes distances du parc en filet du site A pendant et après le traitement avec SLICE®. Les valeurs présentées ici sont les concentrations moyennes tirées de l'analyse de deux ou trois échantillons prélevés à chacun des emplacements.

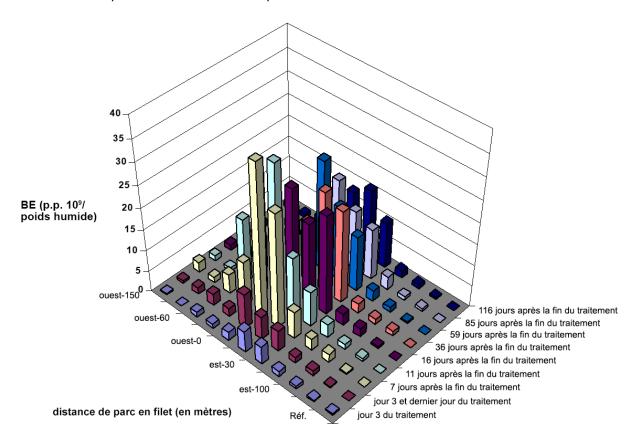


Figure 5. Concentrations de benzoate d'émamectine (p.p. 10<sup>9</sup> de poids humide) mesurées dans des échantillons de sédiments de surface prélevés au site A le long des transects est (E) et ouest (O) pendant quatre mois d'échantillonnage. Les échantillons ont été collectés à des distances précises à l'est et à l'ouest de la ferme, à 0 m, 30 m, 60 m, 100 m et 150 m, ainsi qu'à un site de référence (Réf.). Le niveau d'humidité moyen de tous les échantillons a été déterminé à 69,7 % ± 11,4 %. Le traitement a débuté le 12 janvier 2009.

# Concentrations de benzoate d'émamectine (p.p. 10°) mesurées dans les sédiments de deux fermes salmonicoles de la Colombie-Britannique où les conditions environnementales sont différentes

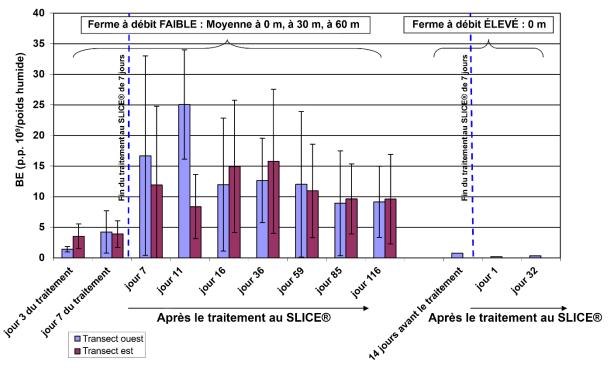


Figure 6. Concentrations de benzoate d'émamectine (p.p. 10<sup>9</sup> de poids humide) mesurées dans des échantillons de sédiments de surface prélevés aux sites A (ferme à débit faible) et B (ferme à débit élevé) avant, pendant et après le traitement avec SLICE®. Pour le site A, les mêmes données présentées à la figure 5 sont incluses ici à des fins de comparaison. Afin de mieux visualiser les différences de concentration de benzoate d'émamectine entre les deux sites, nous avons calculé la moyenne des concentrations de benzoate d'émamectine mesurées à 0, 30 et 60 m à chacune des périodes d'échantillonnage du site A et les concentrations moyennes ainsi que l'écart-type obtenu sont illustrés dans la figure. Le même traitement a été appliqué aux données des transects est et ouest du site A.

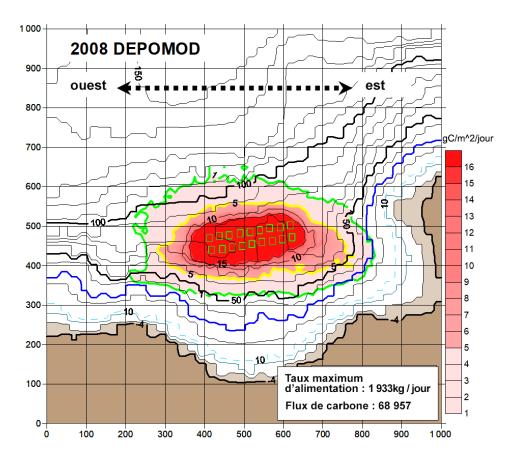


Figure 7. Modélisation DEPOMOD de l'accumulation de matières solides à la ferme salmonicole du site A en 2008. L'orientation des parcs à saumon en 2008 est demeurée la même en 2009 lorsque cette étude a été menée.

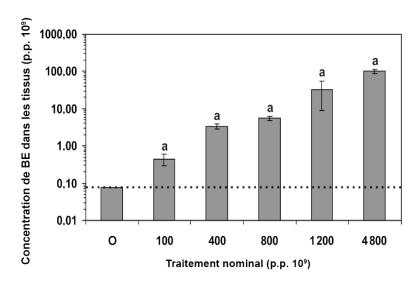


Figure 8. Concentrations de benzoate d'émamectine dans les tissus musculaires des crevettes tachetées par rapport à la concentration d'application nominale à 8 jours d'exposition. La limite de détection = 0,075 p.p.  $10^9$ /poids sec est indiquée par la ligne pointillée. Le test de Mann-Whitney (U) où (a) p<0,05 a permis de relever des différences importantes de la concentration de benzoate d'émamectine dans les tissus par rapport au témoin dans l'eau de mer (O).

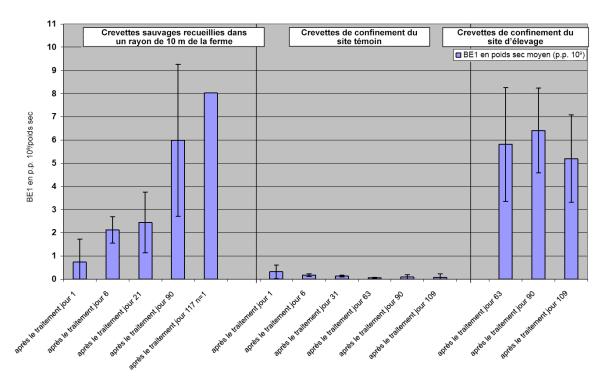


Figure 9. Concentrations moyennes de benzoate d'émamectine mesurées dans les tissus musculaires des crevettes tachetées (p.p. 10<sup>9</sup>/poids sec) prélevés à proximité du site A, avant, pendant et après le traitement avec SLICE®.

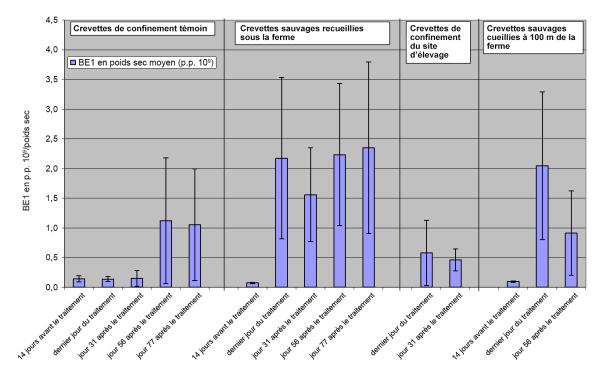


Figure 10. Concentrations moyennes de benzoate d'émamectine mesurées dans les tissus musculaires des crevettes tachetées (p.p. 10<sup>9</sup>/poids sec) prélevés à proximité du site B, avant, pendant et après le traitement avec SLICE®.

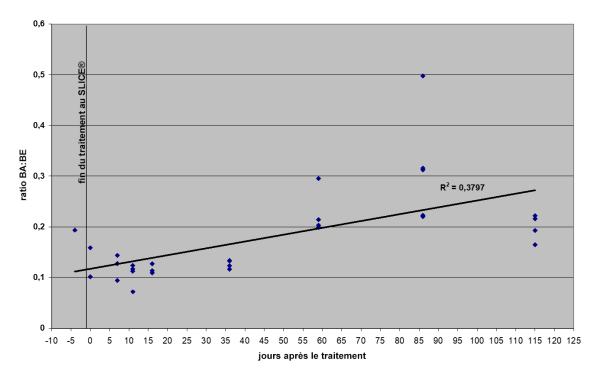


Figure 11. Ratio BABE mesuré dans les échantillons de sédiments du site A prélevés à moins de 60 m de la ferme pendant et après le traitement avec SLICE®. Les concentrations de métabolite déméthylé variaient entre 3 et 25 p.p.  $10^9$ /poids sec.

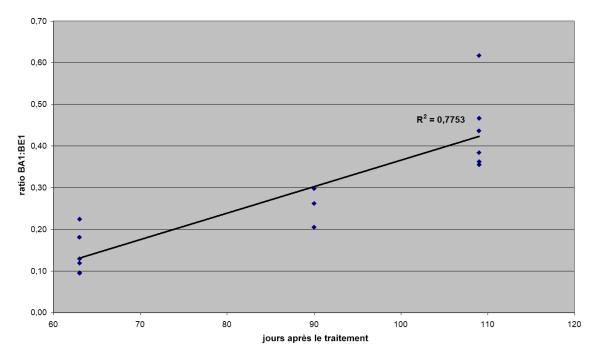


Figure 12. Ratio BABE mesuré dans les crevettes sauvages provenant de casiers de confinement témoins (p.p.  $10^9$ /poids sec) – déployés à proximité du site A. Les échantillons ont été prélevés jusqu'à 110 jours après le traitement avec SLICE®. Les concentrations de métabolite déméthylé variaient entre 0,3 et 3,3 p.p.  $10^9$ /poids sec.

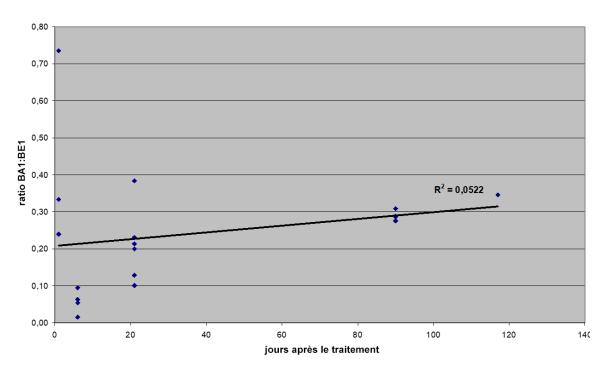


Figure 13. Ratio BABE mesuré dans les crevettes sauvages (en liberté) prélevées dans un rayon de 10 m du parc en filet au site A. Les échantillons ont été collectés jusqu'à 120 jours après le traitement avec SLICE®. Les concentrations de métabolite déméthylé variaient entre 0,1 et 3,4 p.p. 10<sup>9</sup>/poids sec.

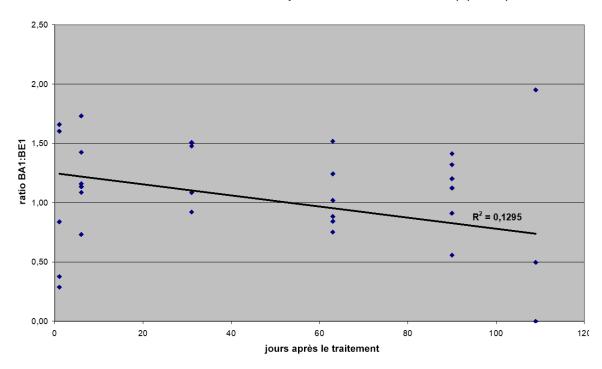


Figure 14. Ratio BABE mesuré dans les crevettes sauvages provenant de casiers de confinement témoins (p.p. 10º/poids sec) – déployés à un emplacement de référence/témoin. Les échantillons ont été prélevés aux mêmes intervalles de temps qu'au site A. Les concentrations de métabolite déméthylé variaient entre 0,1 et 0,3 p.p. 10º/poids sec.

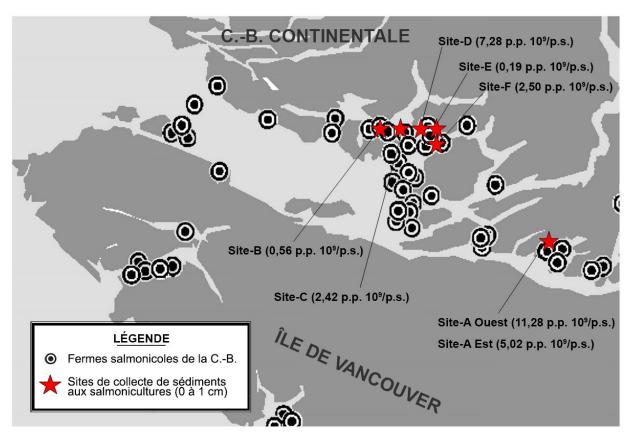


Figure 15. Concentrations de benzoate d'émamectine (p.p.  $10^9$ /poids sec) mesurées dans les sédiments de surface des sites A et B un an et demi après le traitement avec SLICE®. Les concentrations de benzoate d'émamectine recueillies dans les sédiments de surface à d'autres emplacements de l'archipel Broughton où la salmoniculture est très présente sont également illustrées ici.

## 5. RÉFÉRENCES CITÉES

- Bright, D.A. and Dionne, S. 2005. Use of Emamectin Benzoate in the Canadian Finfish Aquaculture Industry: A review of environmental fate and effects. Environment Canada.
- Chukwudebe, A.C., Andrew, N., Drottar, K., Swigert, J. and Wislocki, P.G. 1996.

  <u>Bioaccumulation Potential of 4"-epi-(Methylamino)-4"-deoxyavermectin B1a Benzoate</u>
  (<u>Emamectin Benzoate</u>) in <u>Bluegill Sunfish</u>. J. Agric. Food Chem., 44(9): 2894-2899.
- Ikonomou, M.G. and Surridge, B.D. 2013. <u>Ultra-trace determination of aquaculture chemotherapeutants and degradation products in environmental matrices by LC-MS/MS</u>. International Journal of Environmental Analytical Chemistry, 93:2, 183-198.Kim-Kang, H., Bova, A., Crouch, L.S., Wislocki, P.G., Robinson, R.A. and Wu, J. 2004. <u>Tissue Distribution, Metabolism, and Residue Depletion Study in Atlantic Salmon Following Oral Administration of [3H]Emamectin Benzoate</u>. J. Agric. Food Chem., 52(7): 2108-2118.
- Kuo, J.-n., Buday, C., van Aggelen, G., Ikonomou, M.G. and Pasternak, J. 2010. <u>Acute toxicity of emamectin benzoate and its desmethyl metabolite to *Eohaustorius estuarius*</u>. Environ. Toxicol. Chem., 29: 1816-1820.
- Parker, R.W. and Mallory, M. 2003. Sampling for Emamectin Benzoate in Sediments near a Salmon Aquaculture Operation in the Bay of Fundy. Environment Canada.
- Veldhoen, N., Ikonomou, M.G., Buday, C., Jordan, J., Rehaume, V., Cabecinha, M., Dubetz, C., Chamberlain, J., Pittroff, S., Vallée, K., van Aggelen, G., and Helbing, C.C. 2012. <u>Biological effects of the anti-parasitic chemotherapeutant emamectin benzoate on a non-target crustacean, the spot prawn (*Pandalus platyceros* Brandt, 1851) under laboratory conditions. Aquat. Toxicol., 108, pp. 94-105.</u>

# ANNEXE A. DÉTAILS DE L'ÉTUDE D'EXPOSITION EN LABORATOIRE

Dans cette composante, des crevettes ont été exposées au benzoate d'émamectine dans le cadre d'un ensemble d'expériences en laboratoire contrôlées. Des échantillons de sédiments marins ont été enrichis de benzoate d'émamectine à des concentrations (en p.p. 10°) qui devraient être présentes dans le milieu naturel à proximité des sites de pisciculture après l'application de SLICE®. Les sédiments ont été placés dans des aquariums spécialement conçus et on a ajouté 30 litres d'eau de mer filtrée à une température de 6 à 8 °C. Le benzoate d'émamectine présent dans les sédiments devrait atteindre l'équilibre avec la colonne d'eau en très peu de temps. Il s'agit d'un système d'essai statique qui ne nécessite pas le remplacement des fluides. Le nombre de crevettes ajoutées dans chaque aquarium était conçu pour maintenir une densité de charge de 0,5 g/l. Il y avait un minimum de 5 répétitions par concentration et la durée d'exposition minimale était de 96 heures. Nous avons également mené des expériences avec des durées d'exposition plus longues.

Le volet « laboratoire » de l'étude comprenait les éléments suivants :

- Expériences d'exposition menées dans des conditions de laboratoire contrôlées;
- Exposition des crevettes à différentes concentrations de benzoate d'émamectine dans les aquariums spécialement conçus pour reproduire les conditions de l'environnement naturel;
- Réalisation d'une expérience de série chronologique dans laquelle les crevettes étaient exposées à des concentrations connues de benzoate d'émamectine à différents intervalles;
- Quantification de la concentration de benzoate d'émamectine chez les crevettes à partir de toutes les expériences d'exposition. En parallèle, quantification de la concentration de benzoate d'émamectine dans les échantillons d'eau et de sédiments prélevés à des intervalles prédéterminés et représentatifs de toutes les expériences d'exposition;
- Collecte fréquente d'échantillons représentatifs de crevettes de chaque aquarium pour des travaux génomiques. Les effets biologiques liés au stress, à la mue et à la capacité de détoxication ont été évalués à l'aide de sondes génomiques mises au point dans le cadre de ce projet;
- Examen et modélisation de l'absorption potentielle du benzoate d'émamectine par les organismes de laboratoire en fonction des conditions expérimentales utilisées.

Le nombre total d'échantillons générés dans cette partie de l'étude est résumé ci-après. Vous trouverez également plus loin des détails sur la façon dont l'étude en laboratoire a été menée.

Tableau 1. Sommaire de la collecte d'échantillons pour l'étude d'exposition en laboratoire au SLICE® au Centre des sciences environnementales du Pacifique (CSEP).

DESCRIPTION	N <sup>bre</sup> ÉCHANTILLONS
ÉCHANTILLONS D'EAU TOTAUX	210
ÉCHANTILLONS DE SÉDIMENTS TOTAUX	140
ÉCHANTILLONS DE RINÇAGE TOTAL DE L'AQUARIUM (MeOH)	24
NOMBRE TOTAL DE CREVETTES	321

# A.1. EXPÉRIENCES D'EXPOSITION AU BENZOATE D'ÉMAMECTINE

Ces travaux ont été effectués dans le laboratoire du Dr Graham van Aggelen, au Centre des sciences environnementales du Pacifique (CSEP) d'Environnement Canada à North Vancouver (Colombie-Britannique). Les aquariums utilisés pour cette étude sont disponibles au CSEP et sont utilisés régulièrement pour une vaste gamme d'études toxicologiques dans lesquelles les organismes sont exposés à des contaminants dans différentes conditions expérimentales.

#### Animaux de laboratoire

L'espèce de laboratoire était la crevette tachetée, *Pandalus platyceros*.

#### **Justification**

La crevette *P. platyceros* a été sélectionnée pour cette étude parce qu'il s'agit d'une espèce d'invertébrés marins qui revêt une grande importance commerciale dans l'Ouest canadien.

#### Description

Environ 500 crevettes ont été prélevées dans les eaux océaniques près de l'Institut des sciences de la mer (ISM) et transférées au CSEP. Elles ont été conservées dans un réservoir de 500 L avec une source d'eau de mer fraîche et se sont acclimatées pendant 10 jours avant les expériences. Nous avons observé une mortalité des crevettes d'environ 20 % pendant les premiers stades de l'acclimatation; ce pourcentage est tombé à 5 % dans les derniers stades. Durant la période de retenue, les crevettes étaient nourries de fines tranches de calmar et d'aliments granulés. Les crevettes étaient des deux sexes et ont été prélevées dans une zone où elles n'avaient pas été exposées au benzoate d'émamectine ou à tout autre produit ayant un mécanisme d'action semblable. Les animaux ont été examinés par un taxonomiste qualifié qui a confirmé l'identité de l'espèce testée.

#### État de santé

Les crevettes cliniquement saines ont été acclimatées à l'installation d'essai pendant 10 jours avant le début de l'expérience. Les individus qui semblaient malades ou dont l'état de santé était douteux n'ont pas été utilisés dans les expériences d'exposition.

#### Conditions de retenue

Les expériences d'exposition ont été menées dans des réservoirs en verre. Le benzoate d'émamectine a été injecté dans des sédiments marins « propres » à l'aide des sédiments existants et selon les protocoles et l'appareil d'enrichissement du CSEP. Les concentrations de benzoate d'émamectine dans les sédiments étaient de 100, 400, 800, 1 200 et 4 800 p.p. 10°. Les sédiments ont été placés sur des grilles posées au fond d'aquariums de 40 litres à une profondeur de 2 à 3 cm. Trente litres d'eau de mer filtrée à une température de 6 à 8 °C ont été ajoutés dans chaque aquarium. La température de l'expérience a été maintenue entre 6 et 8 °C pendant toute la durée de l'expérience. Il s'agit d'un système d'essai statique qui ne nécessite pas le remplacement des fluides. Le poids initial de chaque crevette a été consigné et 10 crevettes ont été introduites dans chaque concentration répétée. Il y avait un minimum de cinq répétitions par concentration et le temps d'exposition minimal était de 96 heures. Les groupes témoins ont été exposés uniquement à des sédiments propres et ont subi la même manipulation. Cela a été fait à la fois pour les expériences sur la plage de concentration et les expériences de série chronologique.

### Concentration d'oxygène dissous

La concentration d'oxygène dissous dans l'eau au début de l'expérience pour la détermination de la plage et les études définitives était de 90 % de la saturation. Le débit a été réglé de

manière à fournir un minimum de 1,5 ml/minute dans chaque réservoir. L'eau de chaque chambre d'essai était légèrement aérée. Les concentrations d'oxygène dissous dans les témoins et dans toutes les chambres de traitement sont demeurées supérieures à 60 % de la saturation pendant toute la période d'exposition.

#### Identification de la salle et du réservoir

La salle contenant les réservoirs expérimentaux portait le numéro de l'étude. Les réservoirs de la salle étaient étiquetés avec le numéro de réservoir, le numéro de répétition et le code de traitement.

#### Gestion de réservoirs

L'alimentation en eau du système principal et la température expérimentale étaient surveillées par un système d'alarme 24 heures sur 24. Le personnel était sur appel en tout temps en cas de problèmes. La gestion et les conditions environnementales étaient identiques pour chaque réservoir.

#### Conditions d'élevage

Tous les réservoirs ont été nettoyés, désinfectés et rincés avant l'introduction des crevettes. Sauf indication contraire, l'élevage quotidien était conforme à la procédure opérationnelle normalisée pertinente.

Les crevettes étaient traitées dans des réservoirs d'exposition individuels.

Des registres du ratio quotidien, du comportement des crevettes et de la mortalité ont été tenus.

Les crevettes étaient observées quotidiennement au cours de l'étude. Tout écart par rapport au comportement et à l'apparence normaux était consigné.

Aucun médicament n'a été administré.

Les crevettes mortes ou moribondes étaient retirées des réservoirs, pesées et soumises à un examen macroscopique. Le nombre de crevettes mortes ou moribondes observé chaque jour dans chaque réservoir était consigné sur des formulaires de collecte de données normalisés. Des échantillons histologiques étaient prélevés sur les crevettes mortes ou moribondes.

#### Échantillonnage pour les analyses chimiques et les mesures génomiques

Des échantillons représentatifs de sédiments enrichis étaient prélevés à des intervalles de temps déterminés pour vérifier la concentration et l'homogénéité du mélange et analysés pour déterminer les concentrations de benzoate d'émamectine.

L'eau sus-jacente était recueillie à des intervalles de temps fixes et analysée pour déterminer les concentrations de benzoate d'émamectine.

Des organismes étaient collectés dans chacun des réservoirs et préparés pour des analyses génomiques et chimiques. Le travail de génomique a été effectué à l'Université de Victoria et l'analyse chimique à l'Institut des sciences de la mer.

Les crevettes qui sont mortes pendant l'étude étaient congelées à -20 °C. Après l'expérience correspondante, un nombre égal de crevettes survivantes de chaque groupe de traitement ont été congelées. Nous avons analysé les tissus comestibles des crevettes mortes durant l'étude et de celles qui ont survécu pour déterminer la présence de résidus de benzoate d'émamectine.