

Maisons-Alfort, le 4 octobre 2012

## AVIS

### de l'Agence nationale de sécurité sanitaire de l'alimentation, de l'environnement et du travail

#### relatif à la demande d'autorisation de recherche et développement pour le produit biocide AMOEBA à base de *Willaertia magna* souche C2c. *Maky*, destiné à la protection des fluides industriels, de la société Amoéba SAS

---

*L'Anses met en œuvre une expertise scientifique indépendante et pluraliste.*

*L'Anses contribue principalement à assurer la sécurité sanitaire dans les domaines de l'environnement, du travail et de l'alimentation et à évaluer les risques sanitaires qu'ils peuvent comporter. Elle contribue également à assurer d'une part la protection de la santé et du bien-être des animaux et de la santé des végétaux et d'autre part l'évaluation des propriétés nutritionnelles des aliments.*

*Elle fournit aux autorités compétentes toutes les informations sur ces risques ainsi que l'expertise et l'appui scientifique technique nécessaires à l'élaboration des dispositions législatives et réglementaires et à la mise en œuvre des mesures de gestion du risque (article L.1313-1 du code de la santé publique). Ses avis sont rendus publics.*

*Les avis formulés par l'agence comprennent :*

- *l'évaluation des risques que l'utilisation de ces produits peut présenter pour l'homme, l'animal ou l'environnement ;*
  - *l'évaluation de leur efficacité ainsi que celle de leurs autres bénéfices éventuels ;*
  - *une synthèse de ces évaluations assortie de recommandations portant notamment sur leurs conditions d'emploi.*
- 

#### 1. PRESENTATION DE LA DEMANDE ET CONDITIONS DE REALISATION DE L'EVALUATION

L'Anses a accusé réception d'un dossier de demande d'autorisation de recherche et développement pour le produit AMOEBA, déposé par la société Amoéba SAS, pour laquelle, conformément aux articles L. 522-7 et R.522-40 à R.522-43 du code de l'environnement, l'avis de l'Anses relatif à l'évaluation des risques sanitaires et de l'efficacité du produit est requis.

Le présent avis porte sur le produit biocide AMOEBA à base de *Willaertia magna* souche C2c. Maky, substance active nouvelle, n'ayant pas fait l'objet d'une demande d'inscription à l'annexe I de la directive 98/8/CE<sup>1</sup>), destiné à la protection des fluides industriels (type de produit 11).

L'expertise collective a été réalisée dans le respect de la norme NF X 50-110 « Qualité en expertise – Prescriptions générales de compétence pour une expertise (Mai 2003) » par l'Anses en collaboration avec les membres du comité d'experts spécialisé « évaluation des risques liés aux substances et produits biocides ».

## **2. SYNTHÈSE DE L'ÉVALUATION**

Les données prises en compte sont celles qui ont été jugées valides par l'Anses. L'avis présente une synthèse des éléments scientifiques essentiels qui conduisent aux recommandations émises par l'Anses et n'a pas pour objet de retracer de façon exhaustive les travaux d'évaluation menés par l'Anses.

Les conclusions relatives à l'acceptabilité du risque dans cet avis se réfèrent aux critères indiqués dans l'annexe VI de la directive 98/8/CE. Elles sont formulées en termes d'"acceptable" ou "inacceptable" en référence à ces critères.

Après évaluation de la demande, réalisée par Direction des Produits Réglementés avec l'accord du Comité d'experts spécialisé « évaluation des risques liés aux substances et produits biocides », l'Agence nationale de sécurité sanitaire de l'alimentation, de l'environnement et du travail émet l'avis suivant.

### **2.1. CONSIDÉRANT L'IDENTITÉ, LE CONDITIONNEMENT ET L'APPLICATION DE LA SUBSTANCE ACTIVE ET DU PRODUIT BIOCIDE**

#### **2.1.1. Identité et conditionnement du produit**

Le produit AMOEBA est une solution aqueuse contenant un maximum de 50.10<sup>6</sup> unités actives d'amibe *Willaertia magna* souche C2c. Maky par litre. Il ne contient pas de substance préoccupante au sens de la directive 98/8/CE.

#### **2.1.2. Identité de la substance active *Willaertia magna* souche C2c. Maky**

La substance active *Willaertia magna* souche C2c. Maky est une substance active nouvelle, qui n'a pas encore fait l'objet d'une demande d'inscription à l'annexe I de la directive 98/8/CE.

Le pétitionnaire a fourni une méthode pour l'identification de l'amibe *Willaertia magna* PTA-7824 (ou c2c) et PTA-7825, permettant d'identifier *Willaertia magna* souche C2c. (ou PTA-7824) et PTA-7825 au niveau de l'espèce. Des données de validation de cette méthode ont été fournies (linéarité, précision et recouvrement), et jugées acceptables.

<sup>1</sup> Directive 98/8/CE du Parlement européen et du Conseil du 16 février 1998 concernant la mise sur le marché des produits biocides, transposée par l'ordonnance n°2001-321 du 11 avril 2001

### 2.1.3. Objet de la demande d'autorisation de recherche et de développement

L'objet de cette demande d'autorisation de recherche et développement est le traitement des eaux industrielles par le produit AMOEBA, pour le contrôle de la légionelle et d'autres microorganismes. Le produit AMOEBA est destiné à être appliqué par des professionnels, par injection dans des tours aéroréfrigérantes, à raison d'une injection de produit dans le circuit d'eau tous les deux à trois jours. Le nombre de sites de traitement revendiqué est de 14.

### 2.2. CONSIDERANT LES METHODES D'ANALYSE DE LA SUBSTANCE ACTIVE ET DU PRODUIT BIOCIDES

Des méthodes d'analyse pour la quantification de l'amibe ainsi que des études sur la recherche de contaminants microbiologiques dans le produit ont été fournies.

Les données fournies ont été jugées acceptables dans le cadre de l'autorisation de recherche et développement. Il conviendra toutefois, dans l'éventualité du dépôt d'un dossier d'autorisation de mise sur le marché, de fournir des données complémentaires sur l'identification des souches *Willaertia magna* C2c. (ou PTA-7824) et PTA-7825, la recherche des contaminants et les méthodes de quantification de *Willaertia magna* C2c. (ou PTA-7824) et PTA-7825. Il conviendra par ailleurs de fournir des données complémentaires sur la surveillance de la contamination intracellulaire des amibes par d'éventuels microorganismes (bactéries, virus, microsporidies, champignons...) qui pourraient présenter un pouvoir pathogène pour l'homme et l'environnement.

### 2.3. CONSIDERANT LES PROPRIETES TOXICOLOGIQUES

Les études de toxicologie suivantes ont été réalisées avec une suspension de *Willaertia magna* souche C2c. :

- étude de toxicité aiguë, de pathogénicité et d'infectivité par voie orale chez le rat (OPPTS 885.3050) ;
- étude de toxicité aiguë par voie intrapéritonéale chez le rat (OPPTS 885.3200) ;
- étude de toxicité aiguë par voie orale chez le rat (OECD 423) ;
- études d'irritation cutanée et oculaire chez le lapin (OECD 404 & 405) ;
- étude de sensibilisation cutanée chez le cobaye (OECD 406).

Il est à noter que pour ces trois derniers critères d'évaluation, la souche exacte de *Willaertia magna* c2c utilisée dans ces études n'est pas mentionnée.

Sur la base de ces données, la substance testée n'induit pas de toxicité après administration par voies orale et intrapéritonéale. Après administration orale, *Willaertia magna* souche C2c.Maky n'est pas présente dans les organes considérés et est retrouvée dans les fèces à un niveau très faible voire indétectable.

Aucune étude de toxicité par inhalation n'a été soumise considérant que la taille de l'amibe est supérieure à 50 µm. Cependant, cette information est basée sur une publication réalisée sur des souches de *Willaertia magna* différentes de celles dont l'utilisation est revendiquée par le pétitionnaire. De plus, dans les tests d'écotoxicité soumis dans le cadre de cette demande, la taille de la souche *Willaertia magna* c2c Maky (ou PTA 7824) est comprise entre 10 et 15 µm. Il est ainsi considéré qu'une atteinte pulmonaire ne peut être exclue.

La substance testée n'induit pas d'irritation par voie cutanée et oculaire ni de sensibilisation cutanée. Cependant, les tests disponibles pour tester la sensibilisation cutanée ne sont pas adéquats pour tester les micro-organismes. Par conséquent, tant qu'une méthode adéquate n'est pas disponible, tous les micro-organismes devraient être considérés comme potentiellement sensibilisants.

Au regard des résultats expérimentaux, des teneurs maximales en substance active et en formulants et selon les règles de classification de la directive 1999/45/CE<sup>2</sup>, le produit biocide AMOEBA ne nécessite pas de classification. Cependant, considérant la nature de la substance active, l'étiquetage devra contenir l'information suivante: "potentiellement sensibilisant après contact cutané et par inhalation".

#### **2.4. CONSIDERANT LES DONNEES RELATIVES A L'EXPOSITION DES UTILISATEURS**

Le produit AMOEBA est destiné à être appliqué dans des tours aérorefrigérantes, uniquement par des professionnels. L'utilisation proposée correspond à une injection de produit dans le circuit d'eau tous les deux à trois jours.

Une exposition par voie cutanée et par inhalation est envisagée lors des phases de :

- connexion/déconnexion du système d'injection (le chargement du produit biocide étant cependant automatisé selon Amoéba SAS) ;
- post-application consistant au nettoyage des pompes, maintenance des équipements, surveillance du système et élimination des déchets.

Afin de limiter au maximum l'exposition des utilisateurs, les recommandations suivantes doivent être appliquées :

- utilisation d'un système automatisé pour le chargement du produit biocide ;
- port d'une combinaison, de gants, de lunettes et de chaussures de protection ainsi que d'un masque de protection respiratoire (demi-masque ou masque total filtre P3) pendant toute intervention sur les tours aérorefrigérantes, considérant le potentiel sensibilisant de la substance active ;
- port d'un masque de protection respiratoire (demi-masque ou masque total filtre P3) obligatoire à proximité des tours aérorefrigérantes en fonctionnement ;
- utilisation restreinte à des professionnels formés et informés des dangers potentiels associés à la substance active et au produit biocide.

#### **2.5. CONSIDERANT LES DONNEES RELATIVES A L'EXPOSITION HUMAINE SECONDAIRE**

La taille de *Willaertia magna* souche C2c. étant comprise entre 10 et 15 µm, une exposition secondaire par inhalation est possible *via* les panaches de vapeurs. En effet, considérant que la taille des goutelettes des panaches des tours peut atteindre 40 µm, il n'est pas exclu que les amibes puissent être entraînées dans ces goutelettes.

Du fait des incertitudes liées à l'absence d'étude de toxicité par inhalation et de son potentiel sensibilisant, le produit AMOEBA devra être exclusivement utilisé dans des tours aérorefrigérantes de petites tailles qui seront soit isolées de toute habitation, des animaux d'élevage et des cultures agricoles, soit pour lesquelles une surveillance des panaches (amibe et légionelle) sera réalisée afin notamment de s'assurer de l'absence d'entraînement de l'amibe *via* les panaches de vapeur.

#### **2.6. CONSIDERANT LES DONNEES RELATIVES AUX RESIDUS DANS LES ALIMENTS**

Dans la stricte application des conditions d'emploi proposées en fin d'avis, la contamination de l'alimentation dans le cadre de cette demande est considérée comme limitée.

<sup>2</sup> Directive 1999/45/CE du Parlement européen et du Conseil du 31 mai 1999 concernant le rapprochement des dispositions législatives, réglementaires et administratives des États membres relatives à la classification, à l'emballage et à l'étiquetage des préparations dangereuses

<b>Conditions d'emploi et préconisations devant figurer sur l'étiquetage</b>	<b>Contexte / Remarque</b>
Porter une combinaison, des gants, des lunettes et des chaussures de protection ainsi qu'un masque de protection respiratoire (demi-masque ou masque total filtre P3) pendant toute intervention sur les tours aéroréfrigérantes.	Indispensable pour limiter l'exposition des utilisateurs professionnels.
Porter un masque de protection respiratoire (demi-masque ou masque total filtre P3) à proximité des tours aéroréfrigérantes en fonctionnement.	
Utilisation restreinte à des professionnels formés et informés des dangers potentiels associés à la substance active et au produit biocide.	Conditions générales pour la protection de la santé humaine.
Utilisation exclusive dans des tours aéroréfrigérantes de petites tailles soit isolées de toute habitation, des animaux d'élevage et des cultures agricoles, soit pour lesquelles une surveillance des panaches (amibe et légionelle) est réalisée.	Indispensable pour limiter l'exposition de la population générale.

## **2.7. CONSIDERANT LE DEVENIR DANS L'ENVIRONNEMENT**

Aucune étude sur le devenir dans l'environnement du micro-organisme *Willaertia magna* souche C2c Maky ou du produit AMOEBA n'a été fournie dans le dossier de recherche et développement. Le notifiant indique que la substance active est présente naturellement dans l'environnement et qu'il n'est techniquement pas possible d'effectuer les tests réglementaires requis sur ce type de micro-organisme. Aucune information fournie jugée suffisamment robuste n'a permis d'évaluer le comportement et la dissémination possible du micro-organisme *Willaertia magna* souche C2c Maky dans l'environnement.

Aussi, les essais de recherche et développement du produit AMOEBA devront être réalisés de façon à limiter les rejets dans l'environnement qu'il soit aquatique, terrestre ou atmosphérique par l'utilisation de petites tours de refroidissement et en circuit fermé. Le nombre de tours traitées est limité à 14.

## **2.8. CONSIDERANT LES DONNEES D'ECOTOXICITE**

Les effets aigus sur les organismes aquatiques ainsi que sur les boues des stations d'épuration ont été déterminés.

Le micro-organisme *Willaertia magna* souche C2c Maky n'est pas considéré comme toxique pour les organismes aquatiques et n'inhibe pas l'activité microbienne des boues de stations d'épuration. Les seuils de toxicité (CL<sub>50</sub>, CE<sub>50</sub>) sont supérieurs à la concentration de 50.10<sup>6</sup> amibes/ L, représentant la dose maximale recommandée pour l'usage revendiqué.

Aucune autre étude sur les organismes sédimentaires et terrestres n'a été fournie à ce stade de l'évaluation car s'agissant d'une demande de recherche et développement qui devra être réalisée sur

un nombre limité de petites tours de refroidissement en circuit fermé, l'émission dans l'environnement du micro-organisme *Willaertia magna* souche *C2c Maky* a été considérée comme limitée.

Considérant les critères de classification PBT (Persistant, Bioaccumulable, Toxique), le micro-organisme *Willaertia magna* souche *C2c Maky* n'est pas considéré comme toxique sur la base des résultats expérimentaux sur les organismes aquatiques. Néanmoins les données disponibles à ce jour ne permettent pas de statuer sur les critères de bioaccumulation et de persistance.

Au regard des résultats expérimentaux sur les organismes aquatiques, le micro-organisme *Willaertia magna* souche *C2c Maky* ne nécessite pas de classification pour l'environnement selon les critères de la directive 67/548/CEE et du règlement CE/1272/2008.

## 2.9. CONSIDERANT L'IMPACT ENVIRONNEMENTAL

Les modèles disponibles concernant l'exposition dans l'environnement ne sont pas adaptés aux essais de recherche et développement. Néanmoins, s'agissant d'une demande de recherche et développement qui devra être réalisée sur un nombre limité de petites tours de refroidissement en circuit fermé, l'émission dans l'environnement du micro-organisme *Willaertia magna* souche *C2c Maky* a été considérée comme limitée.

<b>Conditions d'emploi et préconisations devant figurer sur l'étiquetage</b>	<b>Contexte / Remarque</b>
Restreindre les essais de recherche et développement à des tours de refroidissement de petite taille et en circuit fermé.	Limitation de la dissémination dans l'environnement.
Ne pas effectuer de rejets des eaux usées vers l'environnement y compris vers les stations d'épurations. Eliminer les micro-organismes, quelle que soit leur forme enkystée ou végétative, des eaux usées avant tout rejet vers l'environnement et vers les stations d'épuration.	

## 3. CONCLUSIONS ET RECOMMANDATIONS DE L'AGENCE

En se fondant sur les requis définis dans l'arrêté du 19 mai 2004, sur le dossier déposé par le pétitionnaire auprès des autorités françaises, ainsi que sur l'ensemble des éléments dont elle a eu connaissance, l'Agence nationale de sécurité sanitaire de l'alimentation, de l'environnement et du travail estime que :

- les données relatives à l'identité de la substance active *Willaertia Magna* souche *C2c. Maky* ainsi que les méthodes d'analyse soumises sont considérées comme acceptables dans le cadre de la demande de recherche et développement ;
- considérant les risques pour les opérateurs professionnels liés à l'utilisation du produit AMOEBA, l'exposition est considérée comme limitée dans la stricte application des conditions d'emploi

proposées par l'Anses, et au vu des mesures de gestion des risques et de l'application exclusive par des professionnels formés et informés des dangers potentiels associés à la substance active et au produit biocide ;

- considérant les risques pour la population générale *via* l'environnement, l'exposition est considérée comme limitée dans la stricte application des conditions d'emploi proposées par l'Anses ;
- dans la stricte application des conditions d'emploi proposées en fin d'avis, la contamination de l'alimentation dans le cadre de cette demande est considérée comme limitée ;
- considérant les risques pour l'environnement liés à l'utilisation du produit AMOEBBA, au vu de l'usage revendiqué dans le cadre de cette demande, et compte-tenu des données disponibles à ce jour sur son comportement et sa dissémination dans l'environnement, l'exposition est considérée comme limitée dans la stricte application des conditions d'emploi figurant ci-après.

En conséquence, considérant l'ensemble des données disponibles, l'Agence nationale de sécurité sanitaire de l'alimentation, de l'environnement et du travail émet un avis **favorable** pour l'autorisation de recherche et développement du produit AMOEBBA, pour un nombre maximal de 14 sites de traitement et dans la stricte application des conditions mentionnées ci-dessous.

### **3.1. CLASSIFICATION DE LA SUBSTANCE ACTIVE *WILLAERTIA MAGNA* SOUCHE *C2c. MAKY***

La substance active *Willaertia Magna* souche *C2c. Maky* ne possède pas de classification harmonisée dans le règlement CE 1272/2008<sup>3</sup>.

### **3.2. CLASSIFICATION DU PRODUIT AMOEBBA, PHRASES DE RISQUE ET CONSEILS DE PRUDENCE**

Au regard des résultats expérimentaux, des teneurs maximales en substance active et en formulants et selon les règles de classification de la directive 1999/45/CE, le produit biocide AMOEBBA ne nécessite pas de classification.

Cependant, considérant la nature de la substance active, l'étiquetage devra contenir l'information suivante : "potentiellement sensibilisant après contact cutané et par inhalation".

### **3.3. CONDITIONS D'EMPLOI ET PRECONISATIONS DEVANT FIGURER SUR L'ETIQUETAGE**

- Utilisation restreinte à des professionnels formés et informés des dangers potentiels associés à la substance active et au produit biocide.
- Utilisation exclusive dans des tours aérorefrigérantes de petites tailles soit isolées de toute habitation, des animaux d'élevage et des cultures agricoles, soit pour lesquelles une surveillance des panaches (amibe et légionelle) est réalisée.
- Utilisation exclusive dans des tours aérorefrigérantes en circuit fermé.

<sup>3</sup> Règlement (CE) no 1272/2008 du Parlement européen et du Conseil du 16 décembre 2008 relatif à la classification, à l'étiquetage et à l'emballage des substances et des mélanges, modifiant et abrogeant les directives 67/548/CEE et 1999/45/CE et modifiant le règlement (CE) no 1907/2006.

- Porter une combinaison, des gants, des lunettes et des chaussures de protection ainsi qu'un masque de protection respiratoire (demi-masque ou masque total filtre P3) pendant toute intervention sur les tours aéroréfrigérantes.
- Porter un masque de protection respiratoire à proximité des tours aéroréfrigérantes en fonctionnement.
- Ne pas effectuer de rejets des eaux usées vers l'environnement y compris vers les stations d'épurations. Eliminer les micro-organismes quel que soit leur forme enkystée ou végétative des eaux usées avant tout rejet vers l'environnement et vers les stations d'épuration.

### **3.4. DONNEES POST-AUTORISATION**

Il conviendra de fournir dans le cadre de la post-autorisation, un an après l'obtention de l'autorisation de recherche et développement, un état des lieux relatif à la contamination, la surveillance et la sécurité dans le cadre de l'utilisation du produit AMOEBA.

Maisons-Alfort,

Marc Mortureux

### **MOTS-CLÉS**

BDRD, AMOEBA, *Willaertia Magna*, TP11.