



Le directeur général

Maisons-Alfort, le 11 juin 2015

Avis

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

relatif à la demande d'autorisation de mise sur le marché du produit biocide **VECTOBAC 12AS à base de *Bacillus thuringiensis subsp. Israelensis* Sérotype H14 souche AM65-52 (Bti-AM65-52), destiné à la lutte contre les moustiques et les mouches par les professionnels de la désinsectisation, de la société SUMITOMO CHEMICAL Agro Europe 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.

L'Anses a notamment pour mission l'évaluation des dossiers de produits biocides.

Les avis formulés par l'agence pour ces dossiers 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 déposé par la société SUMITOMO CHEMICAL Agro Europe SAS concernant une demande d'autorisation de mise sur le marché d'un produit à base de *Bacillus thuringiensis subsp. Israelensis* Sérotype H14, souche AM65-52 (Bti-AM65-52), pour laquelle, conformément à l'article R.522-14 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 VECTOBAC 12AS à base de *Bti-AM65-52*, (substance active inscrite¹ à l'annexe I de la directive 98/8/CE²), destiné à la lutte contre les moustiques et les mouches (type de produit 18). Les usages et doses d'emploi revendiqués sont mentionnés dans l'annexe 1.

¹ Directive 2011/78/UE de la Commission du 20 septembre 2011 modifiant la directive 98/8/CE du Parlement européen et du Conseil aux fins de l'inscription de *Bacillus thuringiensis* sous-espèce *israelensis*, sérotype H14, souche AM65-52, en tant que substance active à l'annexe I de ladite directive.

² 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.

Il est fondé sur l'examen du dossier déposé pour ce produit, en conformité avec les exigences du règlement (UE) n° 528/2012³.

Le produit est destiné à être appliqué, après dilution ou non, par les professionnels de la désinsectisation dans des gîtes larvaires par voie aérienne (pulvérisation en hélicoptère) ou terrestre (pulvérisation par pompe à pression portable, par souffleur portable motorisé ou pulvérisation par équipement motorisé monté sur véhicule ou par écoulement manuel).

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 « substances et produits biocides ».

2. SYNTHÈSE DE L'ÉVALUATION

Les données prises en compte sont celles qui ont été jugées valides, soit au niveau communautaire, soit 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 du règlement (UE) n° 528/2012. Elles sont formulées en termes d'« acceptable » ou « inacceptable » en référence à ces critères.

Après consultations du comité d'experts spécialisé " substances et produits biocides", réuni le 5 mars 2015, l'Agence nationale de sécurité sanitaire de l'alimentation, de l'environnement et du travail émet l'avis suivant.

2.1. CONSIDÉRANT L'IDENTITÉ, LES CONDITIONNEMENTS ET L'APPLICATION DU PRODUIT BIOCIDÉ

Le produit VECTOBAC 12AS est un insecticide sous forme de suspension concentrée marron contenant 11,61 % m/v (1200 ITU⁴/mg) de substance active technique microbienne. Le produit est destiné à être appliqué, après dilution ou non, par les professionnels de la désinsectisation, dans des gîtes larvaires des moustiques et des mouches par voie aérienne ou terrestre.

Le produit VECTOBAC 12AS est conditionné dans:

- des bidons en polyéthylène haute densité (PEHD) de 10 L ;
- des fûts en PEHD de 50 et 200 L ;
- des cuves en polyéthylène (PE) de 1000 L.

Les emballages secondaires sont constitués par des boîtes en carton pour les emballages en PEHD.

Les spécifications de la substance active microbienne *Bti*- AM65-52 entrant dans la composition du produit VECTOBAC 12AS permettent de caractériser cette substance active et sont conformes aux exigences réglementaires. Il conviendra néanmoins de fixer la bioactivité maximale du produit en ITU/g, de déterminer la bioactivité et de rechercher les salmonelles (dans 1 g de produit biocide), *Escherichia coli*, *staphylococcus aureus* les moisissures et champignons dans 5 lots de du produit conformément au document OCDE 65 (oct. 2011)⁵ en utilisant des méthodes validées ou des méthodes standards internationales.

La formulation du produit VECTOBAC 12AS est différente de celle du produit représentatif présenté dans le dossier d'inclusion de la substance active. Le pétitionnaire a fourni des études réalisées sur le produit VECTOBAC 12AS.

³ Règlement (UE) N° 528/2012 du Parlement européen et du Conseil du 22 mai 2012 concernant la mise à disposition sur le marché et l'utilisation des produits biocides.

⁴ International Toxicity Unit, définie par rapport à un organisme cible de référence. On notera qu'il n'y a pas de relation directe entre les deux unités (CFU (Colony forming Unit, unité formant une colonie) et ITU).

⁵ OCDE issue paper on microbial contaminant limits for microbial pest control products n°65 (oct. 2011).

2.2. CONSIDERANT LES PROPRIETES PHYSICO-CHIMIQUES ET LES METHODES D'ANALYSE DU PRODUIT BIOCIDÉ

Les propriétés physiques et chimiques du produit VECTOBAC 12AS ont été décrites, et les données disponibles permettent de conclure que le produit ne présente ni propriété explosive ni propriété comburante. Le produit n'est ni inflammable, ni auto-inflammable à température ambiante. Le pH du produit VECTOBAC 12AS à 1 % dans l'eau est de 5,0 à 20 °C.

La tension de surface et la viscosité dynamique n'ont pas été fournies. Il conviendra de fournir ces études en post autorisation.

Les études fournies montrent que la mousse formée lors de la dilution aux concentrations d'usage reste dans les limites acceptables.

Les résultats des tests de suspensibilité de la substance active microbienne montrent que le produit dilué est homogène et stable dans les conditions testées. Il conviendra néanmoins de fournir en post autorisation le test de la spontanéité de la dispersion à la concentration maximale de d'utilisation de 0,5 % (v/v).

Les caractéristiques techniques du produit permettent de s'assurer de la sécurité de son utilisation dans la gamme de concentrations de 0,025 % v/v à non dilué.

Les études de stabilité au stockage (18 mois à -18 °C, 12 mois à 20 °C et 18 mois à 15 °C dans PEHD⁶) permettent de considérer que le produit est stable dans ces conditions. L'Anses propose une durée de stockage de 12 mois à 20 °C et 18 mois à 15 °C.

Le produit VECTOBAC 12AS est compatible avec l'emballage PEHD. Les emballages en PE n'ont pas été testés et une étude de stabilité du produit biocide VECTOBAC 12AS dans ces emballages est requise en post-autorisation.

Aucune étude de stabilité à la lumière n'a été fournie. Il conviendra de ne pas stocker le produit VECTOBAC 12AS à la lumière. Si le pétitionnaire souhaite lever cette préconisation, une demande de modification de conditions d'emploi devra être soumise.

Les méthodes d'identification et de caractérisation du micro-organisme sont conformes aux exigences réglementaires.

Les méthodes de quantification du micro-organisme et des contaminants microbiologiques dans la préparation sont conformes aux exigences réglementaires.

En l'absence de définition de résidus de *Bti*-AM65-52 dans les denrées d'origine végétale, les denrées d'origine animale et dans les différents milieux (sol, eau et air), aucune méthode d'analyse n'est nécessaire.

Conditions d'emploi et préconisations devant figurer sur l'étiquetage	Contexte / Remarque
Ne pas stocker plus de 1 an à une température supérieure à 20 °C Ne pas stocker plus de 18 mois à une température supérieure à 15 °C	Températures et durées maximales testées
Stocker à l'abri de la lumière	Pas d'étude acceptable fournie

⁶ PEHD: Polyéthylène haute densité.

2.3. CONSIDERANT L'EFFICACITE DU PRODUIT BIOCIDES

Bacillus thuringiensis sous espèce *israelensis* souche AM65-52 (*Bti*-AM65-52) est une bactérie Gram positive qui produit un cristal protéique toxique lors de sa sporulation. Ce cristal est composé principalement de quatre endotoxines en mélange (Cry4Aa, Cry4Ba, Cry11Aa, Cyt1A). Une fois ingéré par la larve de moustique, le cristal se dissout dans l'intestin et les toxines sont activées par les enzymes digestives. Elles provoquent alors une destruction de l'épithélium intestinal, suivie de la mort de la larve.

Les usages et les doses revendiqués par le pétitionnaire sont présentés en annexe 1.

Les études soumises permettant de démontrer l'efficacité du produit VECTOBAC 12 AS en fonction des usages et des doses revendiqués sont décrites ci-dessous. Ces études ont été réalisées avec le produit VECTOBAC 12AS (11,61 % m/m de *Bti* AM65-52).

Essais sur moustiques

- Une étude de laboratoire selon une méthode WHO⁷ avec le produit VECTOBAC 12 AS, sur l'espèce *Aedes detritus* (stade larvaire L3), appliqué dans de l'eau à des températures comprise entre 2 et 17°C, démontrant une efficacité insuffisante en-dessous de 5°C, 48 heures après le traitement.
- Une étude de terrain (en France) selon une méthode interne avec le produit VECTOBAC 12 AS appliqué avec un pulvérisateur sous pression ULV amphibie sur l'espèce *Aedes detritus* (stades larvaires L2 et L3), démontrant une efficacité supérieure à 90 % à la dose de 3 L/ha, 7 jours après le traitement.
- Une étude de terrain (en Espagne) selon une méthode interne avec le produit VECTOBAC 12 AS appliqué avec un pulvérisateur à dos sur l'espèce *Aedes caspius* (stade larvaire L3), démontrant une efficacité supérieure à 90 % à la dose de 2,5 L/ha, 24 heures après le traitement.
- Une étude de terrain (dans des marécages en Espagne) selon une méthode interne avec le produit VECTOBAC 12 AS, appliqué avec un pulvérisateur à dos sur l'espèce *Aedes caspius* (stade larvaire inconnu) démontrant une efficacité supérieure à 90 % à la dose de 2,5 L/ha, 24 heures après le traitement.
- Une étude de terrain (dans des fossés d'irrigation en Pologne) selon une méthode interne avec le produit VECTOBAC 12 AS, appliqué avec un pulvérisateur sur l'espèce *Culex pipiens* (stades larvaires L3 et L4), démontrant une efficacité supérieure à 90 % aux doses de 0,5 et 1 L/ha après 48 heures et 2 L/ha, 96 heures après le traitement.
- Une étude de terrain (dans des marais en Espagne) selon une méthode interne avec le produit VECTOBAC 12 AS appliqué avec un pulvérisateur à dos sur l'espèce *Aedes caspius* (stade larvaire L3), démontrant une efficacité supérieure à 90 % à la dose de 2,5 L/ha, 24 heures après le traitement.
- Une étude de terrain (dans une rizière en Grèce) selon une méthode interne avec le produit VECTOBAC 12 AS en application aérienne sur les espèces *Aedes caspius*, *Culex sp* et *Anopheles sp* (stades larvaires L1 à L3), démontrant une efficacité supérieure à 90 % aux doses 0,5, 0,6 et 1,2 L/ha, 24 heures après le traitement.
- Une étude de terrain (dans une rizière en Espagne) selon une méthode interne avec le produit VECTOBAC 12AS appliqué avec un pulvérisateur à dos sur l'espèce *Anopheles sp* (stades larvaires L1 à L4), démontrant une efficacité supérieure à 90 % aux doses 1, 1,5 et 2,5 L/ha, 24 heures après le traitement.
- Une étude de terrain (dans une rizière en Espagne) selon une méthode interne avec le produit VECTOBAC 12AS), appliqué avec un pulvérisateur à dos sur l'espèce *Culex spp* (stades larvaires L1 à L4), démontrant une efficacité supérieure à 90 % aux doses de 1, 1,5 et 2 L/ha, 24 heures après le traitement.
- Une étude de terrain (dans des mares d'eau en forêt en Allemagne) selon une méthode interne avec le produit VECTOBAC 12AS appliqué avec une pipette sur l'espèce *Aedes spp* (stades larvaires L1 à L4), démontrant une efficacité supérieure à 90 % aux doses de 0,3 L/ha, 0,6 L/ha et 1,2 L/ha, respectivement 120, 96 et 24 heures après le traitement.
- Une étude de terrain (dans une rizière en Italie) selon une méthode interne avec le produit VECTOBAC 12AS appliqué avec un pulvérisateur monté sur un véhicule sur l'espèce *Aedes caspius*

⁷ WHO: World Health Organization.

- (stades larvaires L1 à L4), démontrant une efficacité supérieure à 90 % aux doses de 0,3, 0,6 et 1,2 L/ha, 24 heures après le traitement.
- Une étude de terrain (dans une rizière en Italie) selon une méthode interne avec le produit VECTOBAC 12AS, appliqué avec un pulvérisateur monté sur un véhicule sur l'espèce *Culex spp* (stades larvaires L1 à L4) démontrant une efficacité supérieure à 90 % aux doses de 0,3 L/ha, 48 heures après le traitement et, 0,6 et 1,2 L/ha, 24 heures après le traitement.
 - Une étude de terrain (dans des fossés en France) selon une méthode interne avec le produit VECTOBAC 12AS appliqué avec un pulvérisateur manuel à air comprimé sur l'espèce *Anopheles maculipennis s.l* (stades larvaires L1 à L4) démontrant une efficacité supérieure à 90 % aux doses 0,5, 1 et 1,5 L/ha, 12 heures après le traitement.
 - Une étude de terrain (4 sites en France) selon une méthode interne avec le produit VECTOBAC 12AS, en application aérienne sur l'espèce *Aedes (Ochlerotatus) caspius* (stades larvaires L2 et L3), démontrant une efficacité supérieure à 90 % à la dose de 1,7 L/ha, 24 heures après le traitement.

Essais sur mouches noires

Les essais d'efficacité sur les larves de mouches noires (simulies) sont réalisés dans des cours d'eau.

Une première série d'essais permet de démontrer l'efficacité de différentes concentrations d'application du produit VECTOBAC 12AS et cette efficacité est maintenue sur une certaine distance depuis le point d'application. Ces distances varient en fonction des cours d'eau :

- Une étude de terrain (sur le fleuve du Danube en Serbie) selon une méthode interne avec le produit VECTOBAC 12AS en application aérienne sur l'espèce *Simulium erythrocephalum* (stades larvaires L1 à L4), démontrant avec des concentrations dans l'eau de 0,96 à 3,76 ppm, une efficacité supérieure à 90 %, 24 heures après le traitement.
- Une étude de terrain (3 sites en Italie) selon une méthode interne avec le produit VECTOBAC 12AS appliqué avec un pulvérisateur à dos pendant 10 minutes, sur l'espèce *Simulium spp* (stade larvaire inconnu), démontrant une efficacité supérieure à 90 % aux concentrations de 5 et 10 ppm dans l'eau par minute jusqu'à 1800 m du point d'application, et à la concentration de 40 ppm dans l'eau par minute jusqu'à 2900 m du point d'application.
- Une étude de terrain (2 sites en France) selon une méthode interne avec le produit VECTOBAC 12AS appliqué avec un pulvérisateur manuel sur l'espèce *Simulium spp* (stade larvaire inconnu), démontrant une efficacité supérieure à 90 % à la concentration de 5 ppm dans l'eau par minute jusqu'à 800 m du point d'application et à la concentration de 10 ppm dans l'eau par minute jusqu'à 2000 m du point d'application, 36 heures après le traitement.
- Une étude de terrain (2 sites en France) selon une méthode interne avec le produit VECTOBAC 12AS appliqué avec pulvérisateur manuel sur l'espèce *Simulium spp* (stade larvaire inconnu), démontrant une efficacité supérieure à 90 % à la concentration de 10 ppm dans l'eau par minute jusqu'à 730 m du point d'application et à la concentration de 5 ppm dans l'eau par minute jusqu'à 1070 m du point d'application, 36 heures après le traitement.
- Une étude de terrain (dans une rivière en Lituanie) selon une méthode interne avec le produit VECTOBAC 12AS appliqué avec pulvérisateur manuel pendant 3 minutes sur l'espèce *Simulium ornatum* (stades larvaires L7 et L8), démontrant une efficacité supérieure à 90 % à la concentration de 10 ppm dans l'eau par 1 minute jusqu'à 1,04 km du point d'application, 3 jours après le traitement.
- Une étude de terrain (dans une rivière en Lituanie) selon une méthode interne avec le produit VECTOBAC 12AS appliqué avec pulvérisateur manuel pendant des durées comprises entre 2,4 et 5,4 minutes, sur l'espèce *Simulium ornatum* (stades larvaires L7 et L8), démontrant une efficacité supérieure à 90 % à la concentration de 2,5 ppm dans l'eau par minute jusqu'à 0,7 km du point d'application, à la concentration de 5 ppm dans l'eau par minute jusqu'à 1,4 km du point d'application, et à la concentration de 10 ppm dans l'eau par minute jusqu'à 2,3 km du point d'application, 2 à 3 jours après le traitement.

Une seconde série d'essais permet de montrer l'influence de la vitesse d'écoulement de la rivière sur le maintien de l'efficacité du produit VECTOBAC 12AS sur des distances plus ou moins longues depuis le point d'application :

- Deux séries d'études de terrain (3 sites en Italie pour chaque série) selon une méthode interne avec le produit VECTOBAC 12AS, appliqué avec un pulvérisateur à dos pendant 10 minutes, sur l'espèce

Simulium spp (stade larvaire inconnu), démontrant une efficacité supérieure à 90 %, aux concentrations de 2,5 ppm, 5 ppm et 15 ppm dans l'eau par minute, 24 heures après le traitement. Ces études montrent que, plus la vitesse d'écoulement est rapide, plus cette efficacité est maintenue sur une longue distance par rapport au point d'application.

Enfin une troisième série d'essais mesure l'influence de la turbidité sur le maintien de l'efficacité du produit VECTOBAC 12AS sur des distances plus ou moins longues depuis le point d'application :

Une étude de terrain (dans cinq rivières en Espagne) selon une méthode interne avec le produit VECTOBAC 12AS, appliqué par écoulement pendant 10 minutes, sur l'espèce *Simulium spp* (stade larvaire inconnu), démontrant une efficacité supérieure à 90 %, 48 heures après le traitement :

- à la concentration de 10 ppm dans l'eau par minute (rivière à faible turbidité), jusqu'à 9,1 km du point d'application ;
- à la concentration de 20 ppm dans l'eau par minute jusqu'à 12,9 km, du point d'application (rivière à faible turbidité) et jusqu'à 4,2 km du point d'application (rivière à forte turbidité), à la concentration de 40 ppm dans l'eau par minute jusqu'à 5,4 km du point d'application (rivière à forte turbidité).

L'ensemble de ces essais sur mouches noires permet de montrer que l'efficacité du produit VECTOBAC 12AS est corrélée à un certain nombre de facteurs qui vont dépendre des cours d'eau traités (vitesse d'écoulement, turbidité, température, ..). Chaque cours d'eau ayant ses propres particularités, les recommandations d'application ne peuvent donc être généralisées. Une cartographie des gîtes et des études préalables s'avèrent nécessaires pour établir les conditions spécifiques du traitement et évaluer sa portée (distance en aval du point d'application où une efficacité satisfaisante est maintenue).

Les études présentées permettent de considérer que le produit VECTOBAC 12AS (11,6 % m/m *Bti* AM65-52) est efficace par pulvérisation terrestre et aérienne :

- vis-à-vis des moustiques, genre *Culex*, *Culiseta*, *Aedes (Ochlerotatus)* et *Anopheles* (stades larvaires L1 à L4), aux doses revendiquées comprises entre 0,25 et 2,5 L/ha ;
- vis-à-vis des mouches noires (*Simulium spp*) aux concentrations revendiquées comprises entre 0,5 à 40 ppm par minute ou entre 0,05 à 4 ppm pour 10 minutes.

Les usages et les doses pour lesquels l'efficacité est considérée comme démontrée sont présentés dans le tableau ci-dessous :

Organismes cibles	Doses et usages validés	Mode d'application	Délai d'action du produit biocide
Moustiques Genres : <i>Culex spp</i> et <i>Culiseta spp</i> , <i>Aedes (Ochlerotatus) spp</i> <i>Anopheles spp</i> Stades larvaires L1 jusqu'au début de L4	0,25 – 2,5 L/ha La dose dépend de la densité des populations et de la qualité de l'eau. Les doses d'emploi les plus faibles (0,25 – 1.5 L/ha) éliminent correctement du 1er jusqu'au début du 4ème stade larvaire. En cas d'une forte densité larvaire, prédominance du stade larvaire L4, eau contenant des niveaux excessifs de matière organique, et / ou un renouvellement significatif de l'eau, les doses élevées doivent être utilisées (1,5 – 2,5 L/ha)	Le produit est appliqué non dilué ou dilué dans l'eau avant l'application. Le volume d'eau varie entre 0 et 1000 L/ha Application terrestre par pulvérisation (pulvérisateur manuel à air comprimé, pulvérisateur à dos, atomiseur, pulvérisateur pneumatique monté sur véhicule) et application aérienne (en hélicoptère, aéronef).	A partir de 24 heures

Organismes cibles	Doses et usages validés	Mode d'application	Délai d'action du produit biocide
Mouches noires (<i>Simulium spp</i>) tous les stades larvaires	<p>0,5 – 40 ppm/min ou 0,05 – 4 ppm/10 min</p> <p>La concentration d'application dans l'eau est corrélée aux particularités de chaque cours d'eau (vitesse d'écoulement, débit, turbidité, température, ...)</p> <p>Utiliser les doses élevées lorsque les cours d'eau contiennent une concentration élevée de matière organique, limon, d'algues planctoniques, de sels, une végétation aquatique dense et / ou lorsque l'on désire augmenter la portée.</p>	<p>Appliquer en amont des sites de reproduction des larves des mouches noires pour s'assurer que les larves seront exposées au produit durant un laps de temps suffisant. Assurer une couverture uniforme de la zone cible en appliquant sur toute la largeur de la rivière ou du ruisseau d'une rive à l'autre.</p> <p>Le produit est appliqué non dilué ou dilué dans des volumes compris entre 0 et 1000 litres d'eau, en fonction du matériel d'application.</p>	A partir de 4 heures

2.4. CONSIDERANT LA RESISTANCE AL A SUBSTANCE

L'état des connaissances sur la résistance des moustiques au *Bti* a été récemment revu par Tetreau (2012)⁸ et dans un rapport du Centre National d'Expertise sur les Vecteurs (CNEV, 2014)⁹.

Concernant *Bacillus thuringiensis* sous espèce *israelensis*, il a été fait état d'une résistance détectée dans une population naturelle de *Culex pipiens* de New York. Cependant aucune autre étude n'a confirmé cette résistance et les mécanismes n'ont pas été caractérisés. A ce jour, aucun autre cas de résistance n'a été trouvé en populations naturelles.

En laboratoire, des équipes de recherches ont sélectionnés des souches de moustiques *Aedes aegypti*, *Culex pipiens* et *Culex quinquefasciatus* en contact continu avec du *Bti* pendant 20 à 30 générations et n'ont obtenu que de faibles niveaux de résistance au *Bti* (entre 2 et 3 fois). Ces chercheurs ont observé une augmentation de la DL₅₀. Toutefois, cette résistance disparaît en quelques générations (3-4), lorsque les insectes ne sont plus exposés au *Bti* et en permettant la reproduction avec des individus provenant d'autres lignées. Cette perte rapide de résistance indique l'instabilité génétique de celle-ci.

L'absence de résistance des moustiques (et également des simuliés) malgré l'emploi massif et depuis plusieurs décennies du *Bti* est souvent expliquée par le fait que plusieurs toxines agissent en mélange, voire en synergie ; la sélection de populations résistantes à plusieurs toxines étant moins probable qu'à une seule. En effet des toxines Cry, même très proches, peuvent avoir des récepteurs membranaires différents, rendant difficile une résistance forte à une combinaison de ces toxines. De plus, la toxine Cyt est un élément clé du *Bti*, connue pour ralentir l'apparition de résistance aux toxines Cry

Enfin, le *Bti* présente une faible activité résiduelle (quelques jours). Cependant, on retrouve des spores de *Bti*, pendant plusieurs semaines à plusieurs mois après un traitement. La bactérie étant qualifiée de peu compétitive par rapport aux autres bactéries du sol, le recyclage du *Bti* était considéré comme peu probable.

⁸ Tetreau, 2012, Devenir du bioinsecticide *Bti* dans l'environnement et impact sur le développement de résistances chez le moustique. Thèse de doctorat de l'université de Grenoble. Spécialité Biodiversité, Écologie, Environnement,

⁹ CNEV. Utilisation des insecticides et gestion de la résistance, février 2014.

Néanmoins, un nombre grandissant de travaux montrent qu'une activité résiduelle du *Bti* peut être trouvée dans certaines conditions et que cette activité pourrait même, dans certains cas, être la conséquence d'un recyclage des spores de *Bti*, c'est-à-dire la germination et la multiplication de la bactérie. Cela a été le cas en région Rhône-Alpes (France), où des litières végétales en décomposition, prélevées plusieurs mois après un traitement insecticide, ont montré une forte activité insecticide contre les larves de moustiques. Cette toxicité est principalement due à la présence de *Bti*, mise en évidence par des étalements bactériens et par la présence de gènes codants pour les toxines du *Bti*.

Une souche de moustiques de laboratoire *Aedes aegypti* sélectionnée pendant plusieurs générations avec cette « litière toxique » a permis d'obtenir une résistance modérée au *Bti* mais bien plus élevée aux toxines Cry considérées séparément. Cette souche est la preuve que le *Bti* peut, sous une forme persistante environnementale, entraîner une résistance au *Bti*.

Ainsi, bien qu'aucun phénomène de résistance n'ait été observé sur les populations naturelles à ce jour, les études de laboratoire montrent que l'exposition au *Bti* peut, dans certaines conditions, entraîner une résistance au *Bti* chez le moustique. La compréhension des mécanismes d'activité résiduelle / recyclage du *Bti* ainsi que la manière dont les moustiques résistent est à suivre.

Conditions d'emploi et préconisations devant figurer sur l'étiquetage	Contexte / Remarque
Toujours lire l'étiquette ou la notice avant utilisation, et respecter toutes les instructions qui y sont indiquées.	Recommandations générales destinées aux professionnels de la désinsectisation
Adopter des méthodes de gestion intégrée telle que la combinaison de méthodes de lutte chimique, physique et autres mesures d'hygiène publique, en tenant compte des spécificités locales (conditions climatiques, espèces cibles, conditions d'usage, etc).	
L'équipement utilisé pour les traitements doit être adapté, correctement entretenu et calibré.	
Tenir compte du cycle de vie et des caractéristiques des insectes cibles pour adapter les traitements. En particulier, cibler le stade de développement le plus sensible de l'organisme cible, le moment des applications et les zones à traiter.	
Informier le détenteur de l'autorisation de mise sur le marché en cas d'inefficacité d'un traitement.	

2.5. CONSIDERANT LES PROPRIETES TOXICOLOGIQUES

Des études toxicologiques ont été réalisées sur le produit VECTOBAC 12 AS et donnent les résultats suivant:

- DL₅₀¹⁰ par voie orale chez le rat, supérieure à 5 000 mg/kg de poids corporel;
- DL₅₀ par voie cutanée chez le lapin, supérieure à 5 000 mg/kg de poids corporel;
- CL₅₀¹¹ par inhalation chez le rat, supérieure à 5,34 mg/L;
- non irritant pour la peau chez le lapin;
- non irritant pour les yeux chez le lapin.

Une étude de sensibilisation cutanée a été réalisée avec la méthode de Buehler (3 inductions) avec le produit VECTOBAC AS de même composition que VECTOBAC 12 AS mais contenant deux fois moins d'unités toxiques internationales par milligramme. Cette étude n'a pas été acceptée par l'Anses.

Enfin, deux études de toxicité répétée réalisées avec VECTOBAC 12 AS et présentes dans le rapport d'évaluation de la substance active montrent l'absence de toxicité après une exposition par voie orale pendant 90 jours chez le chien à la dose de 10⁶ CFU/mL et après une exposition par inhalation pendant 14 jours chez le rat à la concentration de 1,8 x 10⁶ CFU/L d'air.

¹⁰DL₅₀ : la dose létale 50 est une valeur statistique de la dose d'une substance/préparation dont l'administration unique par voie orale provoque la mort de 50 % des animaux traités.
¹¹ CL₅₀ (concentration létale) est une valeur statistique de la concentration d'une substance/préparation dont l'administration unique provoque la mort de 50 % des animaux traités.

Le produit ne contient pas de substances préoccupantes.

Au regard des résultats expérimentaux, de la teneur en substance active, de la teneur en co-formulants et selon les règles de classification, le produit ne nécessite pas de classification. Cependant, les micro-organismes doivent être considérés comme des sensibilisants potentiels. Il conviendra de mentionner sur l'étiquette "*Contient du Bacillus thuringiensis israelensis. Peut provoquer des réactions de sensibilisation.*"

Aucune étude d'absorption n'est nécessaire pour les micro-organismes.

L'espèce *Bacillus thuringiensis israelensis* souche AM65-52 n'est pas inscrite à l'annexe III de la directive 2000/54/CE du 18 septembre 2000 concernant la protection des travailleurs contre les risques liés à l'exposition à des agents biologiques au travail.

Il est indiqué dans le rapport d'évaluation de la substance active que *Bacillus thuringiensis* pouvait être responsable d'infections opportunistes.

Au regard de l'absence d'infectiosité et de pathogénicité du micro-organisme, la fixation de valeurs toxicologiques de référence n'est pas nécessaire.

2.6. CONSIDERANT LES DONNEES RELATIVES A L'EXPOSITION DES UTILISATEURS

Etant donné l'absence de valeurs toxicologiques de référence, aucune estimation quantitative de l'exposition n'est requise.

VECTOBAC 12 AS est un produit sous forme d'une suspension concentrée pour lutter contre les moustiques et les mouches noires. VECTOBAC 12 AS est utilisé uniquement par des professionnels par voie aérienne (en hélicoptère, aéronef) ou terrestre (pulvérisateur manuel à air comprimé, pulvérisateur à dos, atomiseur, pulvérisateur pneumatique monté sur véhicule, déversement manuel).

Les voies d'exposition potentielles sont la voie cutanée, l'ingestion et l'inhalation. Considérant que le micro-organisme ne traverse pas la barrière cutanée non lésée, l'exposition systémique par voie cutanée est jugée non pertinente. L'ingestion du produit, secondaire à l'inhalation, est considérée négligeable. Par conséquent, l'exposition au produit se fait de façon majoritaire par inhalation.

Pour l'application aérienne et via un pulvérisateur monté sur un véhicule, l'exposition pendant l'application peut être considérée comme négligeable si l'appareil est muni d'une cabine fermée.

Pour l'application terrestre à l'aide d'un pulvérisateur portable, le professionnel peut être exposé pendant la phase de mélange / chargement, pendant l'application et le nettoyage de l'équipement de pulvérisation.

Les micro-organismes étant considérés comme potentiellement sensibilisants, il est recommandé d'utiliser les équipements de protection individuelle suivants pendant toutes les phases exposantes:

- gants accordant une protection conforme à la norme NF EN 374¹² parties 1, 2 et 3 contre le produit et les substances actives qu'il contient ;
- combinaison de protection catégorie III de type 4 (étanche aux pulvérisations);
- lunettes de protection;
- masque respiratoire EN FFP3.

Dans ces conditions, l'exposition des professionnels peut être considérée comme négligeable. De plus, le micro-organisme n'est ni toxique, ni infectieux ni pathogène chez les mammifères, il n'est donc pas attendu de risque inacceptable pour les professionnels.

¹² NF EN 374-1 Avril 2004 - Gants de protection contre les produits chimiques et les micro-organismes - Partie 1 : terminologie et exigences de performance.

NF EN 374-2 Avril 2004 - Gants de protection contre les produits chimiques et les micro-organismes - Partie 2 : détermination de la résistance à la pénétration.

NF EN 374-3 Avril 2004 - Gants de protection contre les produits chimiques et les micro-organismes - Partie 3 : détermination de la résistance à la perméation des produits chimiques.

Enfin, *Bacillus thuringiensis* pouvant être responsable d'infections opportunistes, VECTOBAC 12 AS ne devrait pas être utilisé par des personnes fortement immunodéprimées ou sous traitement immunosupresseur.

2.7. CONSIDERANT LES DONNEES RELATIVES A L'EXPOSITION SECONDAIRE

Il est recommandé de mettre en place une zone non accessible à la population lors du traitement et ce jusqu'à ce que la pulvérisation soit finie afin d'éviter l'exposition des passants.

Afin de limiter l'exposition des résidents lors de l'application par épandage aérien, l'Anses recommande une distance minimale de sécurité de 50 mètres comme préconisée lors de la dérogation pour les traitements phytopharmaceutiques par voie aérienne et conformément à l'arrêté du 15 septembre 2014 relatif aux conditions d'épandage par voie aérienne des produits mentionnés à l'article L. 253-8 du code rural et de la pêche maritime.

Compte tenu de la forte dérive attendue avec l'application à l'aide d'un pulvérisateur pneumatique monté sur véhicule et afin de limiter l'exposition des résidents, il est également recommandé une distance minimale de sécurité de 50 mètres lors du traitement avec ce mode d'application. Ainsi, une application, avec un pulvérisateur portable ou par déversement manuel, devra être envisagée dans les zones proches des habitations.

Dans le cas où un travailleur agricole entrerait après épandage sur une parcelle (telle qu'une rizière), il est recommandé qu'il porte un vêtement de travail et des gants de protection. Dans ces conditions, les risques sanitaires pour les travailleurs agricoles sont considérés comme acceptables.

2.8. CONSIDERANT LES DONNEES RELATIVES AUX RESIDUS DANS LES ALIMENTS

Le produit VECTOBAC 12 AS est destiné à l'usage dans les eaux stagnantes, incluant, d'après les usages revendiqués, les rizières et eaux d'irrigation des cultures, et les rivières.

L'utilisation de ce produit dans les eaux d'irrigation des cultures peut conduire à une exposition indirecte du consommateur aux résidus de *Bti* - AM65-52 via les denrées alimentaires. L'utilisation de *Bti* - AM65-52 dans les rizières est revendiquée uniquement en présence d'eau et donc bien avant la récolte. Par ailleurs, le riz lorsqu'il est récolté est appelé riz paddy, protégé par une enveloppe qui est enlevée lors d'une étape de décorticage afin de le rendre comestible.

Compte-tenu de ces considérations et avec un délai avant récolte d'un mois, l'usage de VECTOBAC 12 AS dans les rizières est acceptable. Concernant les eaux d'irrigation des cultures à l'exception des rizières, aucune information n'ayant été soumise par le notifiant, il est impossible d'exclure une éventuelle contamination des denrées à la récolte. Par conséquent cet usage n'est pas proposé.

L'exposition de cultures suite à l'usage dans les rivières dont l'eau pourrait servir à l'irrigation est considéré comme minimisé, compte tenu de la dilution et de la dégradation de la substance active.

Lors de l'utilisation du produit VECTOBAC 12AS, il est donc nécessaire de suivre les instructions d'utilisation présentées dans le tableau ci-après.

Conditions d'emploi et préconisations devant figurer sur l'étiquetage	Contexte / Remarque
Porter des gants de protection (accordant une protection conforme à la norme NF EN 374 parties 1, 2 et 3 contre le produit et la substance active qu'il contient), une combinaison de protection catégorie III de type 4 (étanche aux pulvérisations), des lunettes de protection et un masque respiratoire EN FFP3 pendant toutes les phases exposantes.	Pour protéger la santé des utilisateurs.
Ne pas utiliser par des personnes fortement immunodéprimées ou sous traitement immunosuppresseur.	Pour protéger la santé des utilisateurs.
Pour les travailleurs agricoles après épandage sur une parcelle, porter un vêtement de travail et des gants de protection.	Pour protéger la santé des travailleurs.
Mettre en place une zone non accessible à la population générale pendant le traitement.	Pour limiter l'exposition des passants.
Respecter une distance minimale de sécurité de 50 mètres vis-à-vis des zones traitées par épandage aérien et lors d'une pulvérisation à l'aide d'un équipement motorisé monté sur un véhicule. Une application avec un pulvérisateur portable ou par déversement manuel, devra être envisagée dans les zones proches des habitations.	Pour limiter l'exposition des résidents.
Ne pas utiliser dans les eaux d'irrigation des cultures à l'exception des rizières, pour lesquelles un délai avant récolte de 1 mois doit être respecté.	Indispensable pour limiter la contamination des aliments.

2.9. CONSIDERANT LE DEVENIR DANS L'ENVIRONNEMENT

Aucune étude du devenir dans l'environnement du produit n'a été fournie par le pétitionnaire. L'évaluation des risques pour l'environnement a été réalisée sur la base des données générées dans le cadre de l'examen communautaire de la substance active *Bacillus thuringiensis* subsp. *israelensis* Serotype H14 (*Bti*) souche AM65-52, ce qui est conforme aux exigences du règlement 528/2012 étant donné qu'aucune autre substance préoccupante pour l'environnement n'est utilisée dans le produit VECTOBAC 12AS.

Les *Bacillus thuringiensis* sont présents naturellement dans les sols avec une densité variant de 2×10^5 à 5×10^7 CFU/kg de sol. *Bacillus thuringiensis* subsp. *israelensis* représenterait 20 % de cette densité. Des données de laboratoires montrent que *Bacillus thuringiensis* se développe essentiellement sur milieu riche en nutriment ou préalablement stérilisé, indiquant que cette espèce de bactérie est peu compétitrice.

Plusieurs études de suivi dans l'eau et les sols ont permis de déterminer des demi-vies pour les spores et la toxine dans ces compartiments. Les demi-vies dans l'eau des spores et de la toxine sont de respectivement 50 et 14 jours. Pour le compartiment terrestre, des lectures croisées avec *Bacillus thuringiensis* kurstaki (*Btk*) et *Bacillus thuringiensis* aizawai ont permis de définir des demi-vies dans le sol des spores et de la toxine de respectivement 120 et 5,2 jours. Des données de la littérature montrent également que les spores de *Bti* sont rapidement détruites par le rayonnement solaire. Des résultats similaires ont été obtenus avec les spores et les toxines de *Btk*, indiquant la dégradation rapide de ces espèces lorsqu'elles sont soumises aux rayonnements solaires.

L'adsorption importante et la faible mobilité des spores et des toxines de *Bacillus thuringiensis* ont été reportées dans la littérature. En l'absence de données expérimentales obtenues selon les lignes directrices habituelles, une valeur par défaut de K_{oc}^{13} de 1000 L/kg a été statuée au niveau communautaire.

Les critères de persistance, bioaccumulation et toxicité ne sont pas adaptés aux micro-organismes.

¹³ Koc : Coefficient de partition carbone organique-eau.

2.10. CONSIDERANT LES DONNEES D'ECOTOXICITE

Les effets écotoxicologiques du produit biocide VECTOBAC 12AS ont été extrapolés à partir des données des études conduites avec la substance active dans le cadre de son examen communautaire, ce qui est conforme aux exigences du règlement 528/2012 étant donné qu'aucune autre substance préoccupante pour ses propriétés d'écotoxicité n'est utilisée dans le produit. La substance active étant un micro-organisme, les données de toxicités sont exprimées en mg/L mais aussi en CFU/L, unité qui permet de quantifier la densité des microorganismes dans les tests. Cependant, la toxicité de la bactérie émane d'une toxine qui n'a pas fait l'objet d'une évaluation de risque. La toxicité de la bactérie peut être indirectement évaluée par l'expression des données en ITU/L. Bien que cette unité soit essentiellement utilisée pour évaluer l'efficacité de la substance active, cette unité apparaît comme un bon indicateur de toxicité de la toxine dans l'environnement. On notera d'une part qu'il n'y a pas de relation directe entre les deux unités (CFU et ITU) et que, d'autre part, l'évaluation au niveau européen de la substance active était essentiellement basée sur la densité microbienne (CFU).

Les PNEC¹⁴_{eau de surface} et PNED¹⁵_{eau de surface} du *Bacillus thuringiensis* subsp. *israelensis* Serotype H14 souche AM65-52 sont dérivées de la plus faible valeur de NOEC¹⁶ issue d'une étude de toxicité sur les daphnies et affectées d'un facteur de sécurité de 10. Elles sont égales à 0,05 mg/L, correspondant à $3,3 \times 10^2$ ITU/L (PNEC) et 1×10^7 CFU/L (PNED).

Ni le dossier européen, ni le dossier VECTOBAC 12AS ne comporte d'étude de toxicité de *Bacillus thuringiensis* subsp. *israelensis* Serotype H14 souche AM65-52 sur les micro-organismes de la station d'épuration. Cependant, une étude sur *Bacillus megaterium*, *B. subtilis*, *B. cereus*, *Staphylococcus faecalis* *S. aureus* n'a montré aucun effet délétère de la toxine de *Bacillus thuringiensis* subsp. *israelensis* sur ces bactéries. De plus, les toxines de *Bacillus thuringiensis* subsp. *israelensis* ont été testées sur une variété de bactérie Gram-positif et n'ont montré aucun effet antibiotique. Enfin, l'espèce *Bacillus thuringiensis* a été identifiée dans des boues de station d'épuration. En conséquence aucune PNEC_{STP micro-organismes} n'a pas été déterminée.

Aucune donnée de toxicité sur organismes du sédiment n'est disponible dans le dossier européen ou le dossier VECTOBAC 12AS. Les données de la littérature montrent des données contradictoires sur la toxicité de *Bacillus thuringiensis* subsp. *israelensis* sur des prédateurs des organismes cibles.

Les PNEC_{sol} et PNED_{sol} du *Bacillus thuringiensis* subsp. *israelensis* Serotype H14 souche AM65-52 sont dérivées de l'EC₅₀¹⁷ issue d'une étude de toxicité sur vers de terre et affectée d'un facteur de sécurité de 1000. Elles sont égales à 1 mg/kg, correspondant à 8×10^3 ITU/kg et $4,8 \times 10^7$ CFU/kg respectivement pour la PNEC et la PNED.

Les PNEC_{orale} pour les oiseaux et les mammifères n'ont pas été dérivées compte tenu du mode d'action très spécifique de *Bacillus thuringiensis* subsp. *israelensis*. De plus des tests sur canard et colin de virginie ne montrent pas d'effet lorsque les oiseaux sont exposés à une dose journalière de 3077 mg/kg (correspondant à $6,2 \times 10^{11}$ CFU/kg et $2,03 \times 10^7$ ITU/kg).

Concernant la toxicité de *Bacillus thuringiensis* subsp. *israelensis* Serotype H14 souche AM65-52 sur les abeilles, la DL₅₀ orale est supérieure à 124 µg/j/abeille (correspondant à $2,5 \times 10^7$ CFU/j/abeille et $8,2 \times 10^2$ ITU/j/abeille) et la DL₅₀ contact est supérieure à 100 µg/j/abeille (correspondant à $1,8 \times 10^6$ CFU/j/abeille et $3,0 \times 10^2$ ITU/j/abeille).

Au regard des propriétés de la substance active, de la teneur en co-formulants et selon les règles de classification de la directive 1999/45/CE et du règlement CE 1272/2008, le produit VECTOBAC 12AS ne nécessite aucune classification pour l'environnement.

¹⁴ PNEC : Predictive No Effect Concentration (concentration prévisible sans effet) exprimée en mg/L ou mg/kg, ou en ITU/L ou ITU/kg.

¹⁵ PNED : Predictive No Effect Density (densité prévisible sans effet), exprimée en CFU/L ou CFU/kg.

¹⁶ NOEC: No observed effect concentration.

¹⁷ EC₅₀: median effective concentration.

2.11. CONSIDERANT L'IMPACT ENVIRONNEMENTAL

Etant donné qu'aucune autre substance préoccupante pour l'environnement n'est utilisée dans le produit biocide VECTOBAC 12AS, il a été considéré que l'évaluation du risque pour la substance active *Bacillus thuringiensis* subsp. *israelensis* Serotype H14 souche AM65-52 couvrait l'évaluation du produit, conformément aux exigences du règlement 528/2012. Les données relatives au devenir et au comportement dans l'environnement utilisées dans l'évaluation des risques concernent donc la substance active uniquement.

L'estimation de l'exposition environnementale consécutive à l'utilisation du produit VECTOBAC 12AS a été réalisée avec une approche par taux de consommation et en adaptant les approches développées pour les produits phytosanitaires (FOCUS, 2006)¹⁸. L'exposition de l'environnement a été évaluée en déterminant des densités prédites (EED¹⁹, CFU/L ou CFU/kg) et des unités de toxicité estimées (PEC, ITU/L ou ITU/kg).

Lutte contre les moustiques

Dans le cadre de la lutte contre les moustiques, le produit VECTOBAC 12 AS est appliqué par des professionnels sur des plans d'eaux stagnantes ou courantes. Au maximum 8 applications espacées d'au minimum 7 jours sont préconisées, avec des concentrations entre 0,25 L et 2,5 L VECTOBAC 12AS par hectare. Le produit VECTOBAC 12AS peut être appliqué par application terrestre ou aérienne.

Pour le compartiment aquatique, un scénario d'émission dans une eau stagnante peu profonde (30 cm) a été considéré comme pire cas comparé aux eaux stagnantes de volume plus important et comparé aux eaux courantes où la dilution est plus importante. Le scénario d'exposition prend en compte à la fois la dissipation de la substance entre deux applications et l'adsorption à la phase sédimentaire du plan d'eau. Le mode d'application (terrestre ou aérien) n'a aucune incidence sur l'exposition du compartiment aquatique.

Pour le compartiment terrestre une dérive de 22,24% a été prise en compte dans le cas d'application terrestre. Ce taux de dérive est issue d'une publication (Rautmann *et al.*, 1999²⁰) sur laquelle se basent les guides techniques d'application de produits phytosanitaires. La valeur choisie est la valeur pire cas retenue pour 8 applications en arboriculture. Aucun facteur d'interception par la végétation n'a été pris en compte. Pour l'application aérienne, une dérive de 100 % sur le sol a été prise en compte en absence de valeurs de référence pour cette application. Les densités et unité de toxicité prédites dans le sol ont ensuite été déterminées considérant une profondeur de sol de 5 cm et une dissipation des spores et des toxines entre 2 applications.

Les ratios PEC/PNEC consécutifs à 8 applications, espacées chacune de 7 jours, de 2,5L de VetoBac 12AS/ha, sur les plans d'eau pour les différents compartiments pertinents d'expositions sont reportés dans le tableau suivant :

	EED / PEC	EED/PNEC PEC/PNEC	Risques
Eaux de surface - application aérienne et terrestre	PNED _{eau de surface} = 1×10^7 CFU/L PNEC _{eau de surface} = $3,3 \times 10^2$ ITU/L		
	EED = $2,13 \times 10^6$ CFU/L PEC = $2,54 \times 10^2$ ITU/L	0,21 0,77	Acceptable
Sol	PNED _{sol} = $4,8 \times 10^7$ CFU/kg PNEC _{sol} = $8,0 \times 10^3$ ITU/kg		
	application terrestre (8 applications)	EED = $3,05 \times 10^7$ CFU/kg PEC = $1,57 \times 10^3$ ITU/ kg	0,63
application aérienne (1 application)	EED = $1,97 \times 10^7$ CFU/kg PEC = $4,28 \times 10^3$ ITU/ kg	0,20 0,41 0,535	Acceptable

¹⁸ FOCUS (2006) "Guidance Document on Estimating Persistence and Degradation Kinetics from Environmental Fate Studies on Pesticides in EU Registration" Report of the FOCUS Work Group on Degradation Kinetics, EC Document Reference Sanco/10058/2005 version 2.0, 434 pp

¹⁹ EED : Expected Environmental Density

²⁰ Rautmann D., Strelake M., Winkler R., 1999. New basic drift values in the authorization procedure for plant protection products. Workshop on risk assessment and risk mitigation measures (WORMM), 27-29 September 1999.

- Application par voie terrestre

Les risques sont considérés comme acceptables pour le compartiment eau de surface et le compartiment terrestre, dans le cas de l'utilisation du produit biocide VECTOBAC 12AS par application terrestre en prenant en compte 8 applications espacées chacune d'une semaine et la dose maximale de 2,5L /ha. Cependant, on notera que l'évaluation de risque basée sur les unités toxicologiques internationales a été effectuée en tenant compte du titrage nominal du produit (1200 ITU/mg), en l'absence de données sur le titrage maximal, et que le risque pour les eaux de surface serait inacceptable pour un produit qui titrerait à plus de 1558 ITU/mg.

- Application par voie aérienne

Les risques sont considérés comme acceptables pour le compartiment eau de surface, dans le cas de l'utilisation du produit biocide VECTOBAC 12AS par application aérienne en prenant en compte 8 applications espacées chacune d'une semaine et la dose maximale de 2,5L /ha et un titrage du produit inférieur à 1558 ITU/mg.

Pour l'application par voie aérienne, aucune valeur de dérive n'a été proposée par le demandeur et il a été considéré en pire cas que 100% du produit VECTOBAC 12AS dérivait vers le compartiment terrestre. Dans ces conditions pire-cas, le risque est acceptable pour 1 ou 2 applications, en prenant en compte la dose maximale de 2,5L/ha. Cependant les rapports EED/PNEC sont supérieurs à 1 à partir de 3 applications. Le demandeur revendique jusqu'à 8 applications et en pratique, le nombre d'applications aériennes et l'intervalle entre chaque application dépendent de l'espèce cible, du niveau d'infestation et des conditions climatiques.

Pour les applications aériennes de produits phytopharmaceutiques, l'instauration de zones non traitées peut être préconisée pour réduire la dérive sur les surfaces non visées par le traitement. Ainsi par exemple, le document guide « FOCUS Surface Water Scenarios in the EU Evaluation Process under 91/414/EEC »^[1] propose, une dérive de 27,3% à 5 m dans le cas d'applications aériennes en rizière. Prise en compte pour les calculs d'exposition du sol au *Bti*, cette valeur conduirait à un risque acceptable pour le compartiment terrestre, même en considérant 8 applications, et en recommandant une zone non traitée de 5 m. Cette mesure de réduction des risques ne semble cependant pas appropriée dans le cas de la lutte anti-moustiques. En effet, la plupart des zones traitées par applications aériennes sont de larges plans d'eau, comme des lacs, des marécages ou des rizières, et laisser une zone non traitée en bordure pourrait réduire de manière importante l'efficacité du traitement.

Par ailleurs, il faut se rappeler que la PNEC est dérivée d'une étude de toxicité aiguë sur vers de terre, qui ne montre aucun effet délétère à la concentration maximale testée. En absence de données sur micro-organismes du sol ou sur plantes terrestres, un facteur de sécurité de 1000 a été appliqué à la LC_{50} ²¹ issue de cette étude. Cette PNEC pour le compartiment terrestre apparaît comme très conservatrice. En effet, des données de la littérature montrent que la toxine de *Bti* n'a aucun effet néfaste sur des microorganismes du sol. De plus, *Bti* AM65-52 est considéré comme non toxique pour les plantes, qui ne disposent ni de mécanismes d'absorption de la bactérie, ni d'enzymes digestives spécifiques permettant la libération de l'endotoxine. Enfin, la valeur de la PNEC pour le compartiment terrestre ($4,8 \times 10^7$ CFU/kg sol) est du même ordre de grandeur que la densité naturelle de *Bacillus thuringiensis* dans les sols (2×10^5 to 5×10^7 CFU/kg, P.A.W. Martin, 1991).

En conséquence, pour les applications aériennes répétées et effectuées sur de larges étendues, l'évaluation quantitative du risque pour le compartiment terrestre apparaît comme surestimée. En l'absence d'informations complémentaires sur la dérive, l'interception de la végétation, la toxicité réelle du *Bti* sur les organismes terrestres, il n'est cependant pas possible de préciser l'estimation du ratio PEC/PNEC. De plus, étant donné le mode d'action spécifique de la substance il apparaît plus pertinent d'évaluer les effets de ces applications sur la diversité biologique, plus particulièrement sur les espèces proches des espèces cibles, comme par exemple les insectes appartenant aux sous ordre des Nématocères (ordre des Diptères), et aux espèces appartenant aux mêmes réseaux trophiques que les espèces cibles, en incluant les espèces terrestres. L'Anses recommande donc qu'un suivi de la biodiversité incluant les chaînes trophiques terrestres de ces sites soit mis en place sur les zones de large étendue traitées par applications aériennes répétées.

^[1] FOCUS (2011). "FOCUS Surface Water Scenarios in the EU Evaluation Process under 91/414/EEC". Report of the FOCUS Working Group on Surface Water Scenarios, EC Document Reference SANCO/4802/2001-rev.2. 245 pp.; 2001; updated version 2011.

²¹ LC_{50} : lethal concentration, median.

La dilution et l'adsorption étant plus importantes dans les stations d'épuration que dans un plan d'eau de 30 cm, il a été considéré que l'évaluation de l'exposition de ce compartiment est couverte par l'évaluation de l'exposition des eaux de surface. En raison de l'absence de données de toxicité obtenues selon les lignes directrices usuelles, une évaluation de risque quantitative n'a pas pu être effectuée pour les micro-organismes de la station d'épuration. Cependant, compte tenu des données de toxicité disponibles, il n'est pas attendu que l'application de VECTOBAC 12AS aura un impact négatif sur les micro-organismes de station d'épuration.

Une estimation de l'exposition du compartiment sédimentaire a été réalisée en tenant compte du Koc défini précédemment et indique des valeurs de EED et PEC de $1,15 \times 10^8$ CFU/kg et $1,63 \times 10^4$ ITU/kg pour 8 applications de 2,5 L de VECTOBAC 12AS/ ha espacées chacune de 7 jours.

En absence de données de toxicité, aucune évaluation de risque quantitative n'a pu être effectuée pour ce compartiment lors de l'évaluation européenne. Par ailleurs, des données contradictoires concernant les effets délétères chez des prédateurs des organismes cibles ont été identifiées dans la littérature. L'Anses recommande qu'un suivi de la biodiversité incluant les chaînes trophiques des milieux aquatiques des sites traités sur de longues périodes et sur de grandes étendues soit mis en place.

L'évaluation des risques pour le compartiment aérien n'est pas considérée comme pertinente compte tenu de la sensibilité de *Bacillus thuringiensis* subsp *Israelensis* aux rayonnements solaires.

L'évaluation des risques pour les eaux souterraines n'est pas considérée comme pertinente compte tenu de la faible mobilité des spores et des toxines de *Bacillus thuringiensis*.

Enfin, l'évaluation des risques pour oiseaux, mammifères et abeille n'est pas considérée comme pertinente compte tenu de la spécificité du mode d'action la substance active, impliquant un pH alcalin dans le tube digestif de l'organisme cible, l'action d'enzymes spécifiques pour activer la toxine, et des récepteurs membranaires spécifiques qui vont interagir avec la toxine activée.

Lutte contre les mouches noires (simulies)

Dans le cadre de la lutte contre les simulies, le produit VECTOBAC 12AS est appliqué par des professionnels dans les eaux courantes avec pour objectif atteindre des concentrations de VECTOBAC 12AS dans la rivière entre 0,05 et 4 µL/L pendant 10 minutes ou entre 0,5 et 40 µL/L pendant 1 minute. Au maximum 8 applications espacées d'au minimum 7 jours sont revendiquées.

Pour le compartiment aquatique, il a été considéré que les organismes aquatiques étaient directement exposés au produit. Ainsi les concentrations appliquées en 1 ou 10 minutes (EED variant de $2,95 \times 10^5$ CFU/L à $2,36 \times 10^8$ CFU/L et PEC variant de $6,00 \times 10^1$ ITU/L à $4,80 \times 10^4$ ITU/L) sont assimilées à une exposition aiguë et ont été comparées aux données de toxicité aiguë aquatique disponibles.

La concentration dans l'eau a également été calculée sur 24h, et est assimilée à une exposition chronique dans une approche pire cas. Compte tenu de l'application en eau courante, entraînant la dispersion complète de la substance active entre 2 applications, aucune accumulation résultant des applications successives n'a été prise en compte. L'évaluation du risque a donc été réalisée pour 1 seule application. Le mode d'application (terrestre ou aérien) n'a aucune incidence sur l'exposition du compartiment aquatique. Les résultats sont présentés dans le tableau ci-après.

Pour le compartiment terrestre, le volume de VECTOBAC 12AS à appliquer a initialement été calculé pour une rivière de débit $0,2 \text{ m}^3/\text{s}$, correspondant au débit par défaut du TGD²², en considérant 8 applications successives espacées de 7 jours. Le volume maximal de VECTOBAC 12AS à ajouter à la rivière et aboutissant à des risques acceptables a ensuite été déterminé, ainsi que le débit de rivière correspondant à ce volume maximal de produit, en considérant la dose maximale appliquée (i.e. 4 µL/L pendant 10 minutes ou 40 µL/L pendant 1 minute). Comme pour la lutte anti moustique, aucun facteur d'interception par la végétation n'a été pris en compte. Dans le cas d'application terrestre une dérive de 1,52 %, correspondant à une application sur végétation basse avec un système antidérive, a été prise en compte. Pour l'application aérienne, 100 % de dérive a été considéré en pire cas. Les densités et unités de toxicité prédites dans le sol ont ensuite été

²² Technical Guidance Document in support of Commission Directive 93/67/EEC on Risk Assessment for new notified substances, Commission Regulation (EC) No 1488/94 on Risk Assessment for existing substances and Directive 98/8/EC of the European Parliament and of the Council concerning the placing of biocidal products on the market. EUR 20418 EN/2. Italy, April 2003.

déterminées considérant une profondeur de sol de 5 cm et une dissipation des spores et des toxines entre 2 applications.

Les ratios PEC/PNEC consécutifs à l'application de VECTOBAC 12AS dans les cours d'eau pour les différents compartiments pertinents d'expositions sont reportés dans le tableau suivant. Lorsque 8 applications sont effectuées, elles sont chacune espacées de 7 jours.

	EED / PEC	EED/PNEC PEC/PNEC	Risques
Eaux de surface - application aérienne et terrestre – évaluation chronique			
PNEC _{eau de surface} = 1×10^7 CFU/L PNEC _{eau de surface} = $3,3 \times 10^2$ ITU/L			
1 application			
0,05 µL/L	EED = $2,05 \times 10^3$ CFU/L PEC = $4,17 \times 10^{-1}$ ITU/L	0,0002 0,001	Acceptable Acceptable
0,5 µL/L	EED = $2,05 \times 10^3$ CFU/L PEC = $4,17 \times 10^{-1}$ ITU/L	0,0002 0,001	Acceptable Acceptable
4 µL/L	EED = $1,64 \times 10^5$ CFU/L PEC = $3,33 \times 10^1$ ITU/L	0,016 0,10	Acceptable Acceptable
40 µL/L	EED = $1,64 \times 10^5$ CFU/L PEC = $3,33 \times 10^1$ ITU/L	0,016 0,10	Acceptable Acceptable
Sol			
PNEC _{sol} = $4,8 \times 10^7$ CFU/kg PNEC _{sol} = $8,0 \times 10^3$ ITU/kg			
1 application terrestre			
0,05 µL/L pendant 10 minutes ou 0,5 µL/L pendant 1 minute	EED = $7,18 \times 10^2$ CFU/kg PEC = $1,46 \times 10^{-1}$ ITU/ kg	0,00002 0,00002	Acceptable Acceptable
4 µL/L pendant 10 minutes ou 40 µL/L pendant 1 minute	EED = $5,74 \times 10^4$ CFU/kg PEC = $1,17 \times 10^1$ ITU/ kg	0,001 0,0015	Acceptable Acceptable
8 applications terrestres			
0,05 µL/L pendant 10 minutes ou 0,5 µL/L pendant 1 minute	EED = $5,01 \times 10^3$ CFU/kg PEC = $2,41 \times 10^{-1}$ ITU/ kg	0,001 0,00003	Acceptable Acceptable
4 µL/L pendant 10 minutes ou 40 µL/L pendant 1 minute	EED = $4,01 \times 10^5$ CFU/kg PEC = $1,92 \times 10^1$ ITU/ kg	0,008 0,002	Acceptable Acceptable
1 application aérienne			
0,05 µL/L pendant 10 minutes ou 0,5 µL/L pendant 1 minute	EED = $4,72 \times 10^4$ CFU/kg PEC = 9,60 ITU/ kg	0,001 0,001	Acceptable Acceptable
4 µL/L pendant 10 minutes ou 40 µL/L pendant 1 minute	EED = $3,78 \times 10^6$ CFU/kg PEC = $7,68 \times 10^2$ ITU/ kg	0,079 0,096	Acceptable Acceptable
8 applications aériennes			
0,05 µL/L pendant 10 minutes ou 0,5 µL/L pendant 1 minute	EED = $3,29 \times 10^5$ CFU/kg PEC = $1,58 \times 10^1$ ITU/ kg	0,007 0,002	Acceptable Acceptable
4 µL/L pendant 10 minutes ou 40 µL/L pendant 1 minute	EED = $2,64 \times 10^7$ CFU/kg PEC = $1,27 \times 10^3$ ITU/ kg	0,549 0,158	Non acceptable Non acceptable

- Application par voie terrestre

Pour le compartiment aquatique, seule une étude de toxicité aiguë sur daphnie pendant 10 jours à $3,6 \times 10^9$ CFU/L (bioactivité non renseignée) et montrant aucun effet néfaste significatif est disponible. La densité maximale due à cet usage ($2,36 \times 10^8$ CFU/L) reste inférieure à la densité mesurée lors de ce test aigu. On notera de plus que dans la rivière, les organismes sont exposés à la substance sur des durées bien plus faibles (maximum 10 minutes) que dans le test aigu (10 jours) et que les concentrations estimées dans la rivière ne prennent pas en compte l'adsorption sur le sédiment pourtant non négligeable en milieu naturel. Les risques aigus sont donc considérés comme acceptables. Cependant, en raison du nombre limité d'études de toxicité aiguë disponibles, il semble pertinent que cet usage en rivière, qui reste toutefois peu fréquent, soit accompagné d'un suivi de biodiversité incluant les chaînes trophiques des milieux aquatiques. Les risques chroniques sont considérés comme acceptables pour le compartiment eau de surface, (EED/ PNED et PEC/PNEC < 1).

Les risques sont considérés comme acceptables pour le compartiment terrestre, considérant un débit de rivière faible ($0,2 \text{ m}^3/\text{s}$). Néanmoins des rivières avec un débit beaucoup plus important sont susceptibles d'être traitées. Le volume total de produit à ajouter par l'applicateur sera calculé au cas par cas en considérant le débit de la rivière à l'endroit traité et la concentration à atteindre pour le traitement. Le sol adjacent sera exposé à la dérive du volume total de produit appliqué à la rivière pendant le traitement. Le volume maximal n'entraînant pas de risque inacceptable pour le sol, en considérant la dose maximale en rivière, a été calculé et s'élève à 328 L dans le cas d'une application et à 57,5 L par application dans le cas de 8 applications. Ces volumes correspondent à des débits de rivière de respectivement 137 et $24 \text{ m}^3/\text{s}$. Le traitement de rivière de débit plus important pourrait néanmoins s'avérer nécessaire. Cependant, comme expliqué ci-dessus, la PNED pour le compartiment terrestre apparaît comme très conservatrice et l'évaluation du risque pour ce compartiment comme surestimée. De plus, l'expérience montre que la lutte anti –mouches noires reste occasionnelle. Aussi, si des traitements par voies terrestres de rivières, dont les débits seraient plus importants que ceux mentionnés ci-dessus, deviennent nécessaires sur le plan sanitaire, ils pourront être envisagés, à conditions toutefois qu'ils soient accompagnés d'un suivi de la biodiversité incluant les chaînes trophiques des milieux terrestres, plus particulièrement sur les espèces proches des espèces cibles, comme par exemple les insectes appartenant aux sous ordre des Nématocères (ordre des Diptères), et aux espèces appartenant aux mêmes réseaux trophiques que les espèces cibles.

- Application par voie aérienne

Le mode d'application (terrestre ou aérien) n'a aucune incidence sur l'exposition du compartiment aquatique. Aussi, l'évaluation des risques pour le compartiment aquatique réalisée pour l'application par voie terrestre est valable pour l'application par voie aérienne.

Les risques sont considérés comme acceptables pour le compartiment terrestre, considérant un débit de rivière faible ($0,2 \text{ m}^3/\text{s}$). Néanmoins des rivières avec un débit beaucoup plus important sont susceptibles d'être traitées. Le volume maximal n'entraînant pas de risque inacceptable pour le sol, en considérant la dose maximale en rivière, a été calculé et s'élève à 5 L dans le cas d'une application et à 0,86 L par application dans le cas de 8 applications. Il est cependant fort probable que le recours aux applications aériennes reste une pratique occasionnelle mais impliquant des volumes de produit bien plus importants. En conséquence, si des traitements aériens de rivières deviennent nécessaires sur le plan sanitaire, ils pourront être envisagés, à condition toutefois qu'ils soient accompagnés d'un suivi de la biodiversité incluant les chaînes trophiques terrestres, plus particulièrement sur les espèces proches des espèces cibles, comme par exemple les insectes appartenant aux sous ordre des Nématocères (ordre des Diptères), et aux espèces appartenant aux mêmes réseaux trophiques que les espèces cibles.

Les concentrations prédites dans le sédiment n'ont pas été déterminées pour cet usage, mais en absence de données de toxicité, aucune évaluation de risque quantitative ne peut être effectuée pour ce compartiment. Cependant, des données contradictoires concernant les effets délétères chez des prédateurs des organismes cibles ont été identifiés dans la littérature dans le cadre du dossier européen. Il apparaît donc nécessaire de suivre la biodiversité incluant les chaînes trophiques des sites traités sur de longues périodes et sur de grandes étendues.

Comme pour la lutte contre les moustiques, l'évaluation des risques pour le compartiment aérien, les eaux souterraines, les oiseaux, les mammifères et les abeilles n'est pas considérée comme pertinente.

Lors de l'utilisation du produit VECTOBAC 12AS, il est nécessaire de suivre les instructions d'utilisation présentées dans le tableau ci-dessous.

Conditions d'emploi et préconisations devant figurer sur l'étiquetage	Contexte / Remarque :
Ne pas dépasser 8 applications espacées d'au minimum une semaine.	Indispensable pour la protection de l'environnement
Appliquer par voie aérienne uniquement lorsque l'application par voie terrestre n'est pas possible et uniquement pour des surfaces traitées supérieures à 0,5 ha.	
La personne responsable du contrôle doit s'assurer que l'équipement d'application est adapté à l'aéronef choisi, qu'il est calibré proprement, que la dérive due au vent est minimale sur le site traité, afin de garantir la bonne dose d'application et limiter l'exposition du sol.	
L'aéronef doit être équipé d'un GPS professionnel permettant une application précise du VECTOBAC 12AS quand elle est nécessaire.	
L'étiquette du produit doit informer l'utilisateur de la nécessité de consulter les autorités locales et de respecter les conditions requises avant l'utilisation du VECTOBAC 12AS en milieu naturel	
Des autorisations spécifiques sont requises pour l'application de VECTOBAC 12AS dans les zones couvertes par le réseau Natura 2000, les zones protégées ou les réserves naturelles.	
L'utilisateur doit enregistrer toutes les informations concernant les applications, en indiquant les zones traitées et les doses appliquées. Ces informations doivent être conservées pendant au moins 10 ans et fournies aux autorités locales ou aux chercheurs s'ils le demandent	

Instructions sur l'élimination maîtrisée du produit et de son emballage	Contexte / Remarque :
Eliminer tous les déchets de produit et contenants dans les circuits de collecte appropriés.	Indispensable pour la protection de l'environnement
Ne pas se débarrasser du produit biocide dans les canalisations (évier, toilettes...), les caniveaux, les cours d'eau, en plein champ ou dans tout autre environnement extérieur.	

3. CONCLUSIONS ET RECOMMANDATIONS DE L'AGENCE

En se fondant sur les critères d'acceptabilité du risque définis dans le règlement (UE) n° 528/2012, sur les conclusions de l'évaluation communautaire de la substance active, sur les données soumises par le pétitionnaire et évaluées dans le cadre de cette demande, 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 caractéristiques physico-chimiques du produit biocide VECTOBAC 12AS décrites dans le cadre de la demande d'autorisation de mise sur le marché permettent de s'assurer de la sécurité de son utilisation dans les conditions d'emploi préconisées ci-dessous pour les usages proposés par l'Anses à l'annexe 2. Les durées de conservation proposées par l'Anses pour le produit VECTOBAC 12AS sont de 12 mois à 20 °C et de 18 mois à 15 °C.

Il conviendra en post-autorisation:

- de fixer la bioactivité maximale du produit.
- de mesurer la bioactivité, de rechercher les salmonelles (dans 1 g de produit biocide), *Escherichia coli*, *staphylococcus aureus* les moisissures et champignons dans 5 lots du produit conformément au document OCDE 65 (oct. 2011) en utilisant des méthodes validées ou des méthodes standards internationales.
- de fournir les tests manquants sur la tension de surface et la viscosité dynamique du produit biocide VECTOBAC 12AS.
- de fournir une étude de stabilité du produit biocide VECTOBAC 12AS dans les emballages commerciaux (PE).

Le niveau d'efficacité du produit VECTOBAC 12AS pour les usages proposés à l'annexe 2 est satisfaisant.

Les risques pour les professionnels, liés à l'utilisation du produit VECTOBAC 12AS sont considérés acceptables pour les applications terrestres et aériennes dans les conditions d'emploi mentionnées ci-dessous.

Les risques d'exposition secondaire pour les passants, les résidents et les travailleurs agricoles sont considérés comme acceptables lors des applications terrestres et aériennes dans les conditions d'emploi mentionnées ci-dessous.

L'utilisation du VECTOBAC 12AS est considérée comme acceptable dans les rizières avec un délai avant récolte d'un mois. En revanche, lors de l'utilisation du produit VECTOBAC 12AS dans les eaux d'irrigation des cultures à l'exception du riz, il est impossible d'exclure une éventuelle contamination des denrées à la récolte en raison du manque d'informations disponibles dans le dossier. Il conviendra de ne pas utiliser le produit VECTOBAC 12AS dans les eaux d'irrigation des cultures à l'exception des rizières, pour lesquelles un délai avant récolte d'un mois doit être respecté.

Lutte contre les moustiques

Les risques sont considérés comme acceptables pour le compartiment eau de surface et le compartiment terrestre, dans le cas de l'utilisation du produit biocide VECTOBAC 12AS par application par voie terrestre.

Les risques sont considérés comme acceptables pour le compartiment eau de surface, dans le cas de l'utilisation du produit biocide VECTOBAC 12AS par application aérienne.

Des risques acceptables sont également identifiés pour le compartiment terrestre mais uniquement dans le cas d'1 ou 2 applications aériennes. Cependant, davantage d'applications aériennes pourraient être requises. L'évaluation de risque pour le compartiment terrestre est basée sur une PNED du même ordre de grandeur que la densité naturelle de *Bacillus thuringiensis* observée dans les sols. De plus, la PNED est dérivée d'une étude de toxicité aiguë sur vers de terres ne montrant aucun effet à la plus haute concentration testée et aucun effet toxique n'est attendu sur les microorganismes du sol et sur les plantes terrestres. En conséquence, à partir de 3 applications aériennes effectuées sur de larges étendues, l'Anses recommande d'évaluer les effets de ces applications sur la diversité biologique du compartiment terrestre, plus particulièrement sur les espèces proches des espèces cibles, comme par exemple les insectes appartenant aux sous ordre des Nématocères (ordre des Diptères), et aux espèces appartenant aux mêmes réseaux trophiques que les espèces cibles.

De plus, en l'absence de données de toxicité sur les organismes du sédiment, et tenant compte de données contradictoires de la littérature concernant l'impact de *Bacillus thuringiensis* subsp. *israelensis* Serotype H14 sur les prédateurs des organismes cibles, un suivi de la biodiversité incluant les chaînes trophiques des milieux aquatiques devra être effectué en cas d'application prolongée et sur de grandes étendues du produit VECTOBAC 12 AS. Les données collectées devront être transmises à l'Anses tous les 24 mois. Des mesures de réduction des risques appropriées devront être appliquées en cas de potentielle identification de risques pour ces organismes.

Lutte contre les simuliés

Application terrestre :

Les risques sont considérés comme acceptables pour le compartiment eau de surface, dans le cas de l'utilisation du produit biocide VECTOBAC 12AS par application terrestre. Cependant, en raison du nombre limité d'études de toxicité aiguë disponibles, l'Anses recommande que cet usage en rivière soit accompagné d'un suivi de biodiversité incluant les chaînes trophiques des milieux aquatiques.

Les risques sont considérés comme acceptables pour le compartiment terrestre, considérant un débit de rivière faible (0,2 m³/s). Cependant, des applications dans des rivières de plus fort débit peuvent être envisagées. Le volume total de VECTOBAC 12AS à appliquer sera alors calculé en fonction de la concentration souhaitée, la durée du traitement et du débit de la rivière. Dans ce cas, on notera que les risques pour le sol restent acceptables tant que le volume de VECTOBAC 12AS reste inférieur à 328 L dans le cas d'une seule application et inférieur à 57,5 L dans le cas de 8 applications espacées d'une semaine.

Le recours à des volumes de produit plus importants devra être accompagné d'une évaluation des effets de ces applications sur la diversité biologique du milieu terrestre, plus particulièrement sur les espèces proches des espèces cibles, comme par exemple les insectes appartenant aux sous ordres des Nématocères (ordre des Diptères), et aux espèces appartenant aux mêmes réseaux trophiques que les espèces cibles.

Application aérienne :

Les risques sont considérés comme acceptables pour le compartiment eau de surface, dans le cas de l'utilisation du produit biocide VECTOBAC 12AS par application aérienne. Cependant, en raison du nombre limité d'études de toxicité aiguë disponibles, l'Anses recommande que cet usage en rivière, soit accompagné d'un suivi de la biodiversité incluant les chaînes trophiques des milieux aquatiques.

Les risques sont considérés comme acceptables pour le compartiment terrestre, considérant un débit de rivière faible (5 m³/s pour 1 application, 0,86 m³/s pour 8 applications). Le recours à des volumes de produit plus importants devra être accompagné d'une évaluation des effets de ces applications sur la diversité biologique terrestre, plus particulièrement sur les espèces proches des espèces cibles, comme par exemple les insectes appartenant aux sous ordres des Nématocères (ordre des Diptères), et aux espèces appartenant aux mêmes réseaux trophiques que les espèces cibles, en incluant les espèces terrestres.

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 mise sur le marché du produit biocide VECTOBAC 12AS, dans les conditions mentionnées ci-dessous et pour les usages figurant dans l'annexe 2.

3.1. CLASSIFICATION²³ DE LA SUBSTANCE ACTIVE *Bti*, PHRASES DE RISQUE ET CONSEILS DE PRUDENCE

Les micro-organismes ne sont pas soumis à classification.

3.2. CLASSIFICATION²⁴ DU PRODUIT VECTOBAC 12AS, PHRASES DE RISQUE ET CONSEILS DE PRUDENCE

Au regard des résultats expérimentaux, de la teneur en substance active, de la teneur en co-formulants et selon les règles de classification, le produit ne nécessite pas de classification. Cependant, les micro-organismes doivent être considérés comme des sensibilisants potentiels. Il conviendra de mentionner sur l'étiquette "*Contient du Bacillus thuringiensis israelensis. Peut provoquer des réactions de sensibilisation.*"

3.3. CONDITIONS D'EMPLOI ET PRECONISATIONS DEVANT FIGURER SUR L'ETIQUETAGE POUR LES USAGES PROPOSES PAR L'ANSES

Conditions d'emploi et préconisations liées à l'évaluation des propriétés physico-chimiques

- Ne pas stocker plus de 12 mois à une température supérieure à 20 °C.
- Ne pas stocker plus de 18 mois à une température supérieure à 15 °C.
- Stocker à l'abri de la lumière.

Conditions d'emploi et préconisations liées à l'évaluation de l'efficacité

- Toujours lire l'étiquette ou la notice avant utilisation, et respecter toutes les instructions qui y sont indiquées.
- Adopter des méthodes de gestion intégrée telle que la combinaison de méthodes de lutte chimique, physique et autres mesures d'hygiène publique, en tenant compte des spécificités locales (conditions climatiques, espèces cibles, conditions d'usage, etc).
- L'équipement utilisé pour les traitements doit être adapté, correctement entretenu et calibré.
- Tenir compte du cycle de vie et des caractéristiques des insectes cibles pour adapter les traitements. En particulier, cibler le stade de développement le plus sensible de l'organisme cible, le moment des applications et les zones à traiter.
- Recueillir des données de référence et suivre les niveaux d'efficacité sur les populations dans des zones clés (au moins une enquête par an), de manière à détecter tout changement significatif de sensibilité à la substance active. Les informations issues des programmes de suivi de la résistance permettent de détecter les problèmes précocement, et donnent des informations pour une prise de décision adaptée.
- Informer le détenteur de l'autorisation de mise sur le marché en cas d'inefficacité d'un traitement.

Conditions d'emploi et préconisations liées à l'évaluation des risques pour l'homme

- Porter des gants de protection (accordant une protection conforme à la norme NF EN 374 parties 1, 2 et 3 contre le produit et la substance active qu'il contient), une combinaison de protection catégorie III de type 4 (étanche aux pulvérisations), des lunettes de protection et un masque respiratoire EN FFP3 pendant toutes les phases exposantes.
- Ne pas utiliser par des personnes fortement immunodéprimées ou sous traitement immunosuppresseur.
- Pour les travailleurs entrant après épandage sur une parcelle, porter un vêtement de travail et des gants de protection
- Mettre en place une zone non accessible à la population générale pendant le traitement.

²³ Directive 1999/45/CE du Parlement européen et du Conseil du 31 mai 1999 concernant le rapprochement des dispositions législatives, réglementaires et administratives des Etats membres relatifs à la classification, à l'emballage et à l'étiquetage des préparations dangereuses.

²⁴ Directive 1999/45/CE du Parlement européen et du Conseil du 31 mai 1999 concernant le rapprochement des dispositions législatives, réglementaires et administratives des Etats membres relatifs à la classification, à l'emballage et à l'étiquetage des préparations dangereuses.

- Respecter une distance minimale de sécurité de 50 mètres vis-à-vis des zones traitées par épandage aérien et lors d'une pulvérisation à l'aide d'un équipement monté sur un véhicule. Une application avec un pulvérisateur portable ou par déversement manuel devra être envisagée dans les zones proches des habitations.
- Ne pas utiliser dans les eaux d'irrigation des cultures à l'exception des rizières, pour lesquelles un délai avant récolte de 1 mois doit être respecté.

Conditions d'emploi et préconisations liées à l'évaluation des risques pour l'environnement

- Pour la lutte contre les moustiques par application terrestre, ne pas dépasser 8 applications espacées d'au minimum une semaine.
- Appliquer par voie aérienne uniquement lorsque l'application par voie terrestre n'est pas possible et uniquement pour des surfaces traitées supérieures à 0.5 ha.
- La personne responsable du contrôle doit s'assurer que l'équipement d'application est adapté à l'aéronef choisi, qu'il soit calibré proprement, que la dérive due au vent soit minimale sur le site traité, afin de garantir la bonne dose d'application et limiter l'exposition du sol.
- L'aéronef doit être équipé d'un GPS professionnel permettant une application précise du VECTOBAC 12AS quand elle est nécessaire.
- L'étiquette du produit doit informer l'utilisateur de la nécessité de consulter les autorités locales et de respecter les conditions requises avant l'utilisation du VECTOBAC 12AS en milieu naturel.
- Des autorisations spécifiques sont requises pour l'application de VECTOBAC 12AS dans les zones couvertes par le réseau Natura 2000, les zones protégées ou les réserves naturelles.
- L'utilisateur doit enregistrer toutes les informations concernant les applications, en indiquant les zones traitées, les doses appliquées. Ces informations doivent être conservées pendant au moins 10 ans et fournies aux autorités locales ou aux chercheurs s'ils le demandent.

3.4. INSTRUCTIONS SUR L'ELIMINATION MAITRISEE DU PRODUIT ET DE SON EMBALLAGE

Instructions liées à l'évaluation des risques pour l'environnement

- Eliminer tous les déchets de produit et contenants dans les circuits de collecte appropriés.
- Ne pas se débarrasser du produit biocide dans les canalisations (égouts, toilettes...), les caniveaux, les cours d'eau, en plein champ ou dans tout autre environnement extérieur.

3.5. RECOMMANDATIONS A PRENDRE EN COMPTE PAR LE PETITIONNAIRE

- L'étiquette doit respecter les conditions d'emploi préconisées et le guide de l'étiquetage des produits biocides²⁵.
- En cas d'inefficacité du traitement (suspicion de résistance), l'autorité compétente devra en être informée.

3.6. DONNEES POST-AUTORISATION

Données requises liées à l'évaluation des propriétés physico-chimiques

Il conviendra de fournir :

- La fixation de la bioactivité maximale du produit, dans un délai de 6 mois.
- La détermination de la bioactivité, des salmonelles (dans 1 g de produit biocide), *Escherichia coli*, *staphylococcus aureus*, des moisissures et champignons dans 5 lots du produit conformément au document OCDE 65 (oct. 2011) en utilisant des méthodes validées ou des méthodes standards internationales, dans un délai de 6 mois.
- Les tests manquants sur la tension de surface et la viscosité dynamique du produit biocide VECTOBAC 12AS, dans un délai de 6 mois.
- Une étude de stabilité du produit biocide VECTOBAC 12 AS dans les emballages commerciaux (PE), dans un délai de 24 mois.

²⁵ Guide à l'intention des responsables de la mise sur le marché des produits biocides. Lignes directrices sur l'étiquetage des produits biocides mis sur le marché. Version du 28 août 2007.

Données requises liées à l'évaluation des risques pour l'environnement

Il conviendra de mettre en place un programme de suivi de la biodiversité incluant les chaînes trophiques des milieux aquatiques sur les sites traités lors d'une application du produit VECTOBAC 12AS dans les conditions suivantes :

- Applications répétées sur de grandes étendues dans le cadre de la lutte contre les moustiques.
- Applications dans le cadre de la lutte contre les mouches noires.

Il conviendra de mettre en place un programme de suivi de la biodiversité incluant les chaînes trophiques terrestres sur les sites traités lors d'une application du produit VECTOBAC 12AS dans les conditions suivantes :

- A partir de 3 applications aériennes sur de grandes étendues dans le cadre de la lutte contre les moustiques.
- Applications terrestres dans le cadre de la lutte contre les mouches noires lorsque les volumes appliqués dépassent 328 L dans le cas d'une unique application ou 57,5 L par application dans le cas de 8 applications successives.
- Applications aériennes dans le cadre de la lutte contre les mouches noires.

Les données collectées devront être fournies à l'Anses tous les 24 mois.

MARC MORTUREUX

MOTS-CLES

BAMM, VECTOBAC 12AS, *Bacillus thuringiensis israelensis* serotype H14, souche AM65-52, TP18

ANNEXE(S)

Annexe 1

Liste des usages revendiqués pour une autorisation de mise sur le marché du produit VECTOBAC 12 AS

Cible	Situation		Méthode d'application	Catégorie d'utilisateur, nombre d'application et intervalle
<p>Moustiques</p> <p>Genres : <i>Culex spp</i> et <i>Culiseta spp</i>, <i>Aedes (Ochlerotatus) spp</i> <i>Anopheles spp</i> stades larvaires L1 jusqu'au début de L4</p>	<p>Eaux relativement propres où les larves prolifèrent tels que les canaux d'irrigation, les rizières, les bacs de rétention, les lacs, les rivières, etc.</p>	<p>0,25 - 1,5 L/ha</p> <p>A diluer entre 0 et 500 L d'eau/ha</p>	<p>Pulvérisation par voie aérienne, avec des buses pour limiter la dérive la dérive telle que des buses à éventail plat et des buses à induction d'air (il est recommandé d'avoir une taille des gouttes entre 400 – 800 µm pour éviter la dérive)</p>	<p>Appliquer par les professionnels au maximum 8 fois par saison, avec un intervalle minimum de 7 jours</p>
		<p>Pulvérisation par pompe à pression portable.</p>	<p>Pulvérisation par souffleur portable motorisé:</p>	
		<p>0,250 - 1,5L/ha</p> <p>A diluer entre 0 et 1000 L d'eau/ha</p>	<p>Pulvérisation par équipement motorisé monté sur véhicule.</p>	
<p>Moustiques</p> <p>Genres : <i>Culex spp</i> et <i>Culiseta spp</i>, <i>Aedes (Ochlerotatus) spp</i> <i>Anopheles spp</i> stades larvaires L1 jusqu'au début de L4</p>	<p>Eaux relativement sales, polluées, ou contenant des taux importants de matière organique où les larves prolifèrent tels que les eaux usées, effluents et lagunes d'eaux usées, fosses septiques, lagunes de déjections d'animaux et fumier, les rizières, etc.</p>	<p>1,5 - 2,5 L/ha</p> <p>A diluer entre 0 et 500 L d'eau/ha</p>	<p>Pulvérisation par voie aérienne, avec des buses pour limiter la dérive</p> <p>Pulvérisation par pompe à pression portable.</p> <p>Pulvérisation par souffleur portable motorisé:</p>	<p>Appliquer par les professionnels au maximum 8 fois par saison avec un intervalle minimum de 7 jours</p>
		<p>1,5 - 2,5 L/ha</p> <p>A diluer entre 0 et 1000 L d'eau/ha</p>	<p>Pulvérisation par équipement motorisé monté sur véhicule</p>	

Avis de l'Anses
Avis n° PB-13-00386
VECTOBAC 12AS

Cible	Situation		Méthode d'application	Catégorie d'utilisateur, nombre d'application et intervalle
Larves de mouches (<i>Simulies spp</i>)	Utiliser la concentration élevée lorsque les rivières ruisseaux contiennent une concentration élevée de matière organique, de limon, d'algues planctoniques, etc.	0,5 – 40 ppm par minute ou 0,05 à 4 ppm pour 10 minutes A diluer entre 0 et 300 L d'eau	Pulvérisation par voie aérienne (hélicoptère)	Appliquer par les professionnels au maximum 8 fois par saison. avec un intervalle minimum de 7 jours 1 application par génération.
	La quantité de VECTOBAC 12AS nécessaire pour obtenir le dosage souhaité dépend principalement de la vitesse d'écoulement de la rivière ou du ruisseau. Il est donc nécessaire de calculer le débit de la rivière ou du ruisseau au point d'application.	0,5 – 40 ppm par minute ou 0,05 à 4 ppm pour 10 minutes A diluer entre 0 et 30 L d'eau	Application terrestre pulvérisation par pompe à pression portable. - par écoulement manuel	
		0,5 – 40 ppm par 1 minute ou 0,05 à 4 ppm en 10 minutes. A diluer entre 0 et 1000 L d'eau	Pulvérisation par équipement motorisé monté sur véhicule	

Annexe 2

Liste des usages proposés pour une autorisation de mise sur le marché
du produit biocide VECTOBAC 12 AS

Cible	Doses et volume d'eau de dilution	Méthode d'application	Catégorie d'utilisateur et nombre d'application	
Larves de moustiques : stade L1 jusqu'au début L4 Genres : - <i>Culex spp</i> - <i>Culiseta spp,</i> - <i>Aedes (Ochlerotatus) spp</i> - <i>Anopheles spp</i>	<u>Faible infestation</u> 0, 25 – 1.5 L/ha <u>Forte infestation</u> 1,5 – 2,5 L/ha À diluer entre 0 et 300 L d'eau/ha	Application terrestre - par pulvérisation (pulvérisateur manuel à air comprimé, pulvérisateur à dos) Application aérienne - par pulvérisation (avec buses montées sur un aéronef)	Appliquer par les professionnels de la désinsectisation, dans les gîtes larvaires au maximum 8 fois par saison avec un intervalle minimum de 7 jours.	
	<u>Faible infestation</u> 0,25 – 1.5 L/ha <u>Forte infestation</u> 1,5 – 2,5 L/ha À diluer entre 0 et 1000 L d'eau/ha	Application terrestre par pulvérisation avec équipement motorisé monté sur véhicule		
	0,5 – 40 ppm en 1 minute ou 0,05 à 4 ppm pour 10 minutes À diluer entre 0 et 30 L d'eau/ha	Application terrestre - par pulvérisation (pulvérisateur manuel) - par écoulement manuel		Appliquer par les professionnels de la désinsectisation, dans les gîtes larvaires au maximum 8 fois par saison (une application par génération) avec un intervalle de 7 jours Utiliser la concentration élevée lorsque les rivières / ruisseaux contiennent une concentration élevée de matière organique.
	0,5 – 40 ppm en 1 minute ou 0,05 à 4 ppm pour 10 minutes À diluer entre 0 et 300 L d'eau/ha	Application aérienne - par pulvérisation avec un hélicoptère		
0,5 – 40 ppm en 1 minute soit 0,05 à 4 ppm en 10 minutes À diluer entre 0 et 1000 L d'eau	Application terrestre - par pulvérisation (pulvérisateur monté sur véhicule)			
Larves de mouches noires (<i>Simulium spp</i>) Tous les stades larvaires				