



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 WG à base de *Bacillus thuringiensis subsp. Israelensis* sérotype H14 souche AM65-52 (*Bti* -AM65-52), destiné à la lutte contre les moustiques 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 WG 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 (type de produit 18). Les usages et doses d'emploi revendiqués sont mentionnés dans l'annexe 1.

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

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.

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.

Le produit est destiné à être appliqué, après mise en suspension dans l'eau, par les professionnels de la désinsectisation dans des gîtes larvaires des moustiques par voie aérienne (pulvérisation ou épandage) ou terrestre (pulvérisation par pompe à pression portable, par souffleur portable motorisé ou pulvérisation par équipement motorisé monté sur véhicule).

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 consultation 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 WG est un insecticide sous forme de granulés dispersibles marron contenant 37 % m/m (3000 ITU⁴/mg) de substance active technique microbienne. Le produit est destiné à être appliqué, après mise en suspension dans l'eau, par les professionnels de la désinsectisation, dans des gîtes larvaires des moustiques par voie aérienne ou terrestre.

Le produit VECTOBAC WG est conditionné dans des boîtes en polyéthylène haute densité (PEHD) de contenance de 500 g et 5 kg ou dans des récipients en fibres de 25 kg. Les boîtes en PEHD sont emballées, dans des cartons.

Les spécifications de la substance active microbienne *Bti*- AM65-52 entrant dans la composition du produit VECTOBAC WG permettent de caractériser cette substance active microbienne et sont conformes aux exigences réglementaires.

- Il conviendra néanmoins de fixer la bioactivité maximale du produit en ITU/mg et de rechercher en post-autorisation, les salmonelles, les moisissures et champignons dans 5 lots du produit conformément au document OCDE n°65 (oct. 2011)⁵ en utilisant des méthodes validées ou des méthodes standards internationales.
- Il conviendra également de rechercher les *Staphylococcus aureus* dans 5 lots du produit avec une méthode validée ayant une limite de détection inférieure à 10 CFU⁶/g conformément au document OCDE 65 (oct. 2011) (absence dans 1g).

Le produit VECTOBAC WG est le produit représentatif évalué dans le cadre de l'inscription de la substance active microbienne *Bti*- AM65-52 à l'annexe I de la directive 98/8/CE.

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).

⁶ Colony, Forming Unit.

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

Les propriétés physiques et chimiques du produit VECTOBAC WG 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 WG à 1 % dans l'eau est de 5,9 à 20 °C.

Le produit VECTOBAC WG peut être considéré comme "pratiquement sans poussière" et résistant à l'usure.

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 d'utilisation de 40 % (m/v).

Les caractéristiques techniques du produit permettent de s'assurer de la sécurité de son utilisation dans la gamme de concentrations de 0,0125 % à 40 % (m/v).

Les études de stabilité au stockage (2 ans à -18 °C, 2 ans à 20-25 °C dans l'emballage PEHD⁷) permettent de considérer que le produit est stable dans ces conditions. L'Anses propose une durée de stockage maximale de 2 ans à 25 °C. Il conviendra cependant, de déterminer en post-autorisation, les contaminants microbiologiques conformément au document OCDE 65 dans un même lot de la préparation avant et après stockage 24 mois à 25 °C et de fournir une étude sur la mousse persistante après stockage pendant 24 mois à 25 °C conformément au manuel FAO (nov.2010)⁸ et au GIFAP n°17 (2009)⁹.

Le produit VECTOBAC WG est compatible avec l'emballage PEHD. La nature du matériau de l'emballage en fibre revendiqué doit être fournie en post-autorisation.

Aucune étude de stabilité à la lumière n'a été fournie. Il conviendra de ne pas stocker le produit VECTOBAC WG 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 sous réserve de fournir les résultats des limites fixées dans le document OCDE 65 pour la recherche des salmonelles, des moisissures et des levures dans le produit.

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 2 ans ni à une température supérieure à 25 °C	Température et durée maximales testées
Stockier à l'abri de la lumière	Pas d'étude ni de justification acceptable fournie

⁷ PEHD: Polyéthylène haute densité.

⁸ Manual on development and use of FAO and WHO specifications for pesticides_ November 2010-second revision of first Edition.

⁹ Guidelines for specifying the shelf life of plant protection products_Technical monograph N° 17 2nd Edition 2009.

2.3. CONSIDERANT L'EFFICACITE DU PRODUIT BIOCIDE

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.

Le produit VECTOBAC WG est le produit représentatif du rapport d'évaluation de la substance active. Les études soumises permettant de démontrer l'efficacité du produit VECTOBAC WG en fonction des usages et des doses revendiqués sont décrites ci-dessous. Ces études ont été réalisées avec le produit VECTOBAC WG (37 % m/m de *Bti* AM65-52) ou le produit VECTOBAC WDG (37 % m/m de *Bti* AM65-52). Ce dernier est considéré comme similaire au produit VECTOBAC WG puisque seul un agent conservateur a été rajouté dans le produit VECTOBAC WG, et la lecture croisée entre ces deux produits a été jugée acceptable.

➤ Essai de laboratoire

- Une étude de laboratoire selon la méthode WHO 2005¹⁰ avec le produit VECTOBAC WDG appliqué dans des containers en plastique, sur l'espèce *Anopheles sp.* (stades larvaires L2 et L3), démontrant une efficacité supérieure à 90 % aux doses de 1 ppm après 24 heures et 0,125 ppm ; 0,25 ; 0,5 et 1 ppm après 48 heures du traitement.
- Une étude de laboratoire selon une méthode interne avec le produit VECTOBAC WDG sur l'espèce *Anopheles gambiae* (stade larvaire L3) démontrant une efficacité supérieure à 90 % à la dose 0,2 ppm après 24 heures du traitement.

➤ Essai de semi-terrain

- Une étude de semi-terrain (sur des rizières en Grèce) selon une méthode interne avec le produit VECTOBAC WDG appliqué par pulvérisation avec un atomiseur sur l'espèce *Culex pipiens* (stades larvaires L2 et L3), démontrant une efficacité supérieure à 90 % aux doses de 125, 250, 500 et 1000 g/ha après 24 heures du traitement.

➤ Essais de terrain

- Une étude de terrain (4 sites aux USA) selon une méthode interne avec le produit VECTOBAC WDG épandu par application aérienne (hélicoptère) sous forme de granulés contenus dans de la glace, sur les espèces *Aedes vexans* (stades larvaires L2 et L3), *Culiseta annulata* (stades larvaires L1 à L4), *Ochlerotatus sticticus* (stades larvaires L2 et L3) et *Aedes rossicus* (stades larvaires L2 et L3), démontrant une efficacité supérieure à 90 % aux doses de 100 g/ha, 200 g/ha et 400 g/ha de produit dans 10 kg de glace/ha, et 400 g/ha de produit dans 5 kg de glace/ha, après 48 du traitement.
- Une étude de terrain (sur des marécages en Espagne) selon une méthode interne avec le produit VECTOBAC WDG appliqué avec un pulvérisateur à dos sur l'espèce *Aedes (Ochlerotatus) caspius* (stades larvaires L1 et L4) démontrant une efficacité supérieure à 90 % aux doses de 500 g/ha et 1000 g/ha après 24 heures du traitement.
- Une étude de terrain (sur des fossés d'irrigation en Pologne) selon une méthode interne avec le produit VECTOBAC WDG appliqué avec un pulvérisateur à air comprimé (sur *Culex pipiens* (stades larvaires L3 et L4) démontrant une efficacité supérieure à 90 % aux doses de 200 g/ha après 7 jours, 400 g/ha après 4 jours et 800 g/ha après 2 jours du traitement.
- Une étude de terrain (sur des mares d'eau en forêt en Allemagne) selon une méthode interne avec le produit VECTOBAC WG appliqué avec un pulvérisation manuel sur les espèces *Aedes (Ochlerotatus) cantans*, *Aedes communis*, *Aedes cineris* et *Aedes punctor* (stades larvaires L1 à L4), démontrant une efficacité supérieure à 90 % aux doses de 125 g/ha après 144 h, 250 g/ha après 96 heures et 500 g/ha après 24 heures du traitement.
- Une étude de terrain (4 sites en France) selon une méthode interne avec le produit VECTOBAC WG en application aérienne sur l'espèce *Aedes (Ochlerotatus) caspius* (stades larvaires L2 et L3), démontrant une efficacité supérieure à 90 % à la dose de 1000 g/ha après 24 heures du traitement.

¹⁰ WHO/CDS/WHOPES/GCDPP/2005.13 Guidelines for laboratory and field testing of mosquito larvicides.

- Une étude de terrain (au Kenya) selon une méthode interne avec le produit VECTOBAC WDG appliqué avec un pulvérisateur à main sur l'espèce *Anopheles gambiae* (stade larvaire L3), démontrant une efficacité supérieure à 90 % aux doses de 800 et 1000 g/ha après 24 heures du traitement.
- Une étude de terrain (au Burkina Faso) selon une méthode interne avec le produit VECTOBAC WDG appliqué avec un pulvérisateur à main sur l'espèce *Anopheles gambiae* (stades larvaires L1 à L4), démontrant une efficacité supérieure à 90 % aux doses de 400, 800 et 1000 g/ha après 24 heures du traitement.
- Une étude de terrain (en Afghanistan) selon une méthode interne avec le produit VECTOBAC WDG appliqué par pulvérisation (véhicule de pompier) sur les espèces *Anopheles spp* et *Culex spp* (stades larvaires L1 à L4), démontrant une efficacité supérieure à 90 % à la dose de 1900 g/ha après 5 jours du traitement.
- Trois autres études de terrain effectuées en Europe sur le genre *Anopheles* mais avec d'autres formulations à base de *Bti* que le produit VECTOBAC WG, ont été considérées comme des données additionnelles permettant de montrer l'efficacité de la substance active *Bti*-AM65-52 sur le genre *Anopheles*.

Dans d'autres essais de semi-terrain ou de terrain, réalisés soit avec un pulvérisateur pneumatique monté sur véhicule pour 4 essais, soit avec un atomiseur pour 2 autres essais, l'efficacité a été évaluée en faisant varier à la fois la distance d'application et le débit de l'appareil, afin d'estimer l'impact de chacun de ces paramètres sur l'efficacité du traitement. Les résultats de ces essais montrent que la distance d'application et le volume de traitement dépendent fortement du matériel utilisé et du site d'application, et qu'il est nécessaire de veiller au calibrage du matériel.

D'autres essais déjà soumis dans le rapport d'évaluation de la substance active et conduits avec la formulation VECTOBAC WDG ont été fournis mais n'ont pas été retenus car ils avaient été rejetés en raison de rapports d'essais incomplets.

Les études présentées permettent de considérer que le produit VECTOBAC WG (37 % m/m *Bti*-AM65-52) est efficace vis-à-vis des genres *Culex*, *Culiseta*, *Aedes* (*Ochlerotatus*) et *Anopheles* (stades larvaires L1 à L4), aux doses comprises entre 0,125 et 1 kg/ha, pour des volumes d'eau à l'hectare compris entre 2,5 et 1000 L, par pulvérisation terrestre et aérienne.

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</i> (<i>Ochlerotatus</i>) <i>spp</i> <i>Anopheles spp</i> Stades larvaires L1 jusqu'au début de L4	0,125 – 1 kg/ha La dose dépend de la densité de population, du stade larvaire ainsi que la qualité de l'eau. Les doses d'emploi les plus faibles sont appliquées jusqu'au début du 4 ^{ème} stade larvaire. En cas de prédominance du 4 ^{ème} stade larvaire, d'une haute densité de population, d'une eau contenant un niveau élevé de matières organiques, de la fréquence de renouvellement de l'eau, de basses températures, les doses d'emploi les plus élevées doivent être appliquées.	Le produit est dissous dans l'eau avant l'application. Le volume d'eau varie entre 2,5 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 (épandeur de granulés glacés en hélicoptère, aéronef).	A partir de 24 heures

2.4. CONSIDERANT LA RESISTANCE A LA SUBSTANCE

L'état des connaissances sur la résistance des moustiques au *Bti* a été récemment revu par Tetreau (2012)¹¹ et dans un rapport du Centre National d'Expertise sur les Vecteurs (CNEV, 2014)¹².

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 sélectionné 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.

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. C'est 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 en fait 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 résistante au *Bti* (souche « LiTOX ») 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 des 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 poursuivre.

¹¹ 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,

¹² CNEV. Utilisation des insecticides et gestion de la résistance, février 2014

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.	
Informers le détenteur de l'autorisation de mise sur le marché en cas d'inefficacité d'un traitement.	

2.5. CONSIDERANT LES PROPRIETES TOXICOLOGIQUES

Le produit VECTOBAC WG est le produit représentatif du rapport d'évaluation de la substance active. Dans ce cadre, les études toxicologiques ont été évaluées par l'Etat-Membre rapporteur de la substance active et donnent les résultats suivant:

- DL₅₀¹³ par voie orale chez le rat, supérieure à 5 000 mg/kg de poids corporel;
- DL₅₀ par voie cutanée chez le rat, supérieure à 5 000 mg/kg de poids corporel ;
- CL₅₀¹⁴ par inhalation chez le rat, supérieure à 0,014 mg/L (concentration maximale atteignable) ;
- non irritant pour la peau chez le lapin ;
- non irritant pour les yeux chez le lapin ;
- non sensibilisant cutané chez le cobaye.

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.

¹³DL₅₀ : 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.

¹⁴ 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.

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.

Le produit VECTOBAC WG est un produit sous la forme de granulés dispersibles pour lutter contre les moustiques. Il est utilisé uniquement par des professionnels par voie aérienne (épandeur de granulés glacés en hélicoptère, pulvérisation par aéronef) ou terrestre (pulvérisateur manuel à air comprimé, pulvérisateur à dos, atomiseur, pulvérisateur pneumatique monté sur véhicule).

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 comme 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 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 374¹⁵ 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.

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

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 terminée, 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 devra être envisagée dans les zones proches des habitations.

¹⁵ 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.

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 WG est destiné à l'usage professionnel dans les eaux stagnantes, incluant, d'après les usages revendiqués, les rizières et eaux d'irrigation des cultures. Le produit est revendiqué pour des applications terrestres et applications aériennes.

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 revendiqué 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'utilisation du produit VECTOBAC WG dans les rizières est acceptable. Concernant les eaux d'irrigation des cultures à l'exception du riz, 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.

Lors de l'utilisation du produit VECTOBAC WG, il est donc 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 :
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 entrant 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 aérienne et lors d'une pulvérisation à l'aide d'un équipement pneumatique monté sur un véhicule. Une application avec un pulvérisateur portable 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 souche AM65-52 (Bti-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 WG.

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}^{16} de 1000 L/kg a été statuée au niveau communautaire.

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

2.10. CONSIDERANT LES DONNEES D'ECOTOXICITE

Les effets écotoxicologiques du produit biocide VECTOBAC WG 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 ITU¹⁷/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 PNEC¹⁸_{eau de surface} et PNED¹⁹_{eau de surface} du *Bti*- AM65-52 sont dérivées de la plus faible valeur de NOEC²⁰ 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 WG ne comporte d'étude de toxicité de *Bti*- 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 microorganismes n'a été déterminée.

¹⁶ Koc : Coefficient de partition carbone organique-eau

¹⁷ International Toxicity Unit, définie par rapport à un organisme cible de référence.

¹⁸ PNEC : Predictive No Effect Concentration (concentration prévisible sans effet) exprimée en mg/L ou mg/kg, ou en ITU/L ou ITU/kg.

¹⁹ PNED : Predictive No Effect Density (densité prévisible sans effet), exprimée en CFU/L ou CFU/kg.

²⁰ NOEC: No observed effect concentration.

Aucune donnée de toxicité sur organismes du sédiment n'est disponible dans le dossier européen ou le dossier VECTOBAC WG. 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 *Bti*- AM65-52 sont dérivées de l'EC₅₀²¹ 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 8x10³ ITU/kg et 4,8 x10⁷ 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 6,2x10¹¹ CFU/kg et 2,03x10⁷ ITU/kg).

Concernant la toxicité de *Bti*- AM65-52 sur les abeilles, la DL₅₀ orale est supérieure à 124 µg/j/abeille (correspondant à 2,5x10⁷ CFU/j/abeille et 8,2x10² ITU/j/abeille) et la DL₅₀ contact est supérieure à 100 µg/j/abeille (correspondant à 1,8x10⁶ CFU/j/abeille et 3,0x10² 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 WG ne nécessite aucune classification pour l'environnement.

2.11. CONSIDERANT L'IMPACT ENVIRONNEMENTAL

Etant donné qu'aucune autre substance préoccupante pour l'environnement n'est utilisée dans le produit biocide VECTOBAC WG, il a été considéré que l'évaluation du risque pour la substance active *Bti*- AM65-52 couvrirait l'évaluation du produit, conformément aux exigences du règlement (UE) 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 WG a été réalisée avec une approche par taux de consommation et en adaptant les approches développées pour les produits phytosanitaires (FOCUS, 2006)²².

L'exposition de l'environnement a été évaluée en déterminant des densités prédites (EED²³, CFU/L ou CFU/kg) et des unités de toxicité estimées (PEC, ITU/L ou ITU/kg).

Le produit VECTOBAC WG 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 0,125 et 1 kg VECTOBAC WG par hectare. Le produit VECTOBAC WG 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 aérienne. Ce taux de dérive est issue d'une publication (Rautmann et al., 1999²⁴) sur laquelle se basent les guides

²¹ EC₅₀ : median effective concentration.

²² 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

²³ EED : Expected Environmental Density

²⁴ 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.

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 unités 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 1 kg de VECTOBAC WG/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	PNEC _{eau de surface} = 1×10^7 CFU/L PNEC _{eau de surface} = $3,3 \times 10^2$ ITU/L		
applications aérienne et terrestre	EED = $2,60 \times 10^6$ CFU/L PEC = $2,37 \times 10^2$ ITU/L	0,26 0,72	Acceptable
Sol	PNEC _{sol} = $4,8 \times 10^7$ CFU/kg PNEC _{sol} = $8,0 \times 10^3$ ITU/kg		
application terrestre (8 applications)	EED = $3,72 \times 10^7$ CFU/kg PEC = $1,47 \times 10^3$ ITU/ kg	0,77 0,18	Acceptable
application aérienne (1 application)	EED = $2,40 \times 10^7$ CFU/kg PEC = $4,00 \times 10^3$ ITU/ kg	0,50 0,50	Acceptable

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 WG par application terrestre, en prenant en compte 8 applications espacées chacune d'une semaine et la dose maximale de 1 kg /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 (3000 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 4167 ITU/mg.

Les risques sont considérés comme acceptables pour le compartiment eau de surface, dans le cas de l'utilisation du produit biocide VECTOBAC WG par application aérienne, en prenant en compte 8 applications espacées chacune d'une semaine et la dose maximale de 1 kg /ha et un titrage du produit inférieur à 4167 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 WG 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 1 kg /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.

^[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.

Par ailleurs, il faut se rappeler que la PNED 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}^{25} issue de cette étude. Cette PNED pour le compartiment terrestre apparaît comme très conservative. 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 PNED pour le compartiment terrestre ($4,8 \times 10^7$ CFU/kg soil) 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.

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 WG 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 $1,41 \cdot 10^6$ CFU/kg et $1,52 \cdot 10^4$ ITU/kg pour 8 applications de 1 kg / ha de VECTOBAC WG, 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 étant 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 de 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.

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

²⁵ LC_{50} : lethal concentration, median.

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 WG 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 WG en milieu naturel.	
Des autorisations spécifiques sont requises pour l'application de VECTOBAC WG 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 WG 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. La durée de conservation proposée par l'Anses pour le produit VECTOBAC WG est de 2 ans à 25 °C. Toutefois, il conviendra de fournir en post-autorisation:

- La recherche des salmonelles, 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.
- La recherche de *Staphylococcus aureus* dans 5 lots du produit avec une méthode validée ayant une limite de détection inférieure à 10 CFU/g conformément au document OCDE 65 (oct. 2011) (absence dans 1g).
- Le test de la spontanéité de la dispersion à la concentration maximale d'utilisation (40 % (m/v)).
- La recherche des contaminants microbiologiques conformément au document OCDE 65 dans un même lot de la préparation avant et après stockage 24 mois à 25 °C et de fournir une étude la mousse persistante après stockage pendant 24 mois à 25 °C conformément au manuel FAO (2010) et au GIFAP n°17 (2009).
- La nature du matériau de l'emballage en fibre revendiqué.
- Les méthodes validées pour la recherche des salmonelles, des moisissures et champignons dans la préparation.

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

Les risques pour les professionnels, liés à l'utilisation du produit VECTOBAC WG sont considérés comme acceptables pour les usages proposés par l'Anses à l'annexe 2 et 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 pour les usages proposés par l'Anses à l'annexe 2 et dans les conditions d'emploi mentionnées ci-dessous.

L'utilisation du VECTOBAC WG est considérée comme acceptable dans les rizières avec un délai avant récolte d'un mois. En revanche, lors de l'utilisation du produit VECTOBAC WG 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 WG dans les eaux d'irrigation des cultures à l'exception des rizières, pour lesquelles un délai avant récolte d'un mois doit être respecté.

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 WG 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 WG 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, souche AM65-52 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 WG. Les données collectées devront être fournies à l'Anses tous les 24 mois. Des mesures de réductions des risques appropriées devront être appliquées en cas de potentielle identification de risques pour ces organismes.

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 WG, dans les conditions mentionnées ci-dessous et pour les usages figurant dans l'annexe 2.

3.1. CLASSIFICATION²⁶ DE LA SUBSTANCE ACTIVE Bti, PHRASES DE RISQUE ET CONSEILS DE PRUDENCE

Les micro-organismes ne sont pas soumis à la classification.

3.2. CLASSIFICATION²⁷ DU PRODUIT VECTOBAC WG, 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 2 ans ni à une température supérieure à 25 °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.

²⁶ 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.

²⁷ 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.

- 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.
- 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.
- 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 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

- 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 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 WG 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 WG en milieu naturel.
- Des autorisations spécifiques sont requises pour l'application de VECTOBAC WG 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.

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 (évier, 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 biocides²⁸.
- En cas d'inefficacité du traitement (suspicion de résistance), l'autorité compétente devra en être informée.

²⁸ 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.

3.6. DONNEES POST-AUTORISATION

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

Il conviendra de fournir :

- La recherche des salmonelles, les moisissures et champignons dans 5 lots de la préparation conformément au document OCDE 65 (oct. 2011) en utilisant des méthodes validées ou des méthodes standards internationales, dans un délai de 6 mois
- La recherche de *Staphylococcus aureus* dans 5 lots du produit avec une méthode validée ayant une limite de détection inférieure à 10 CFU/g conformément au document OCDE 65 (oct. 2011) (absence dans 1g), dans un délai de 6 mois.
- le test de la spontanéité de la dispersion à la concentration maximale d'utilisation (40 % (m/v)), dans un délai de 6 mois.
- La recherche des contaminants microbiologiques conformément au document OCDE 65 dans un même lot de la préparation avant et après stockage 24 mois à 25 °C et de fournir une étude la mousse persistante après stockage pendant 24 mois à 25 °C conformément au manuel FAO (2010) et au GIFAP n°17 (2009), dans un délai de 24 mois
- La nature du matériau de l'emballage en fibre revendiqué, dans un délai de 6 mois.
- Des méthodes validées pour la recherche des salmonelles, des moisissures et champignons dans la préparation, dans un délai de 6 mois.

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 répétée du produit VECTOBAC WG sur de grandes étendues.
- Il conviendra de mettre en place un programme de suivi de la biodiversité incluant les chaînes trophiques terrestres sur les sites traités à partir de 3 applications aériennes du produit VECTOBAC WG sur de grandes étendues.

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

Marc MORTUREUX

MOTS-CLES

BAMM, VECTOBAC WG, *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 WG

Cible	Situation		Méthode d'application	Catégorie d'utilisateur, nombre d'application et intervalle
Moustiques Genres : <i>Culex spp</i> et <i>Culiseta spp</i> , <i>Aedes</i> (<i>Ochlerotatus</i>) <i>spp</i> <i>Anopheles</i> <i>spp</i> stades larvaires L1 jusqu'au début de L4	Eaux relativement propres où les larves prolifèrent tel que les canaux d'irrigation, les rizières, les bacs de rétention, les lacs, les rivières, etc	0,125 – 0,5 kg/ha A diluer entre 2,5 et 500 L d'eau/ha	Pulvérisation par voie aérienne, avec des buses pour limiter 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) Pulvérisation par voie terrestre : - Pulvérisation par pompe à pression portable. - Pulvérisation par souffleur - portable motorisé - Pulvérisation par équipement motorisé monté sur véhicule.	Appliquer par les professionnels au maximum 8 fois par saison avec un intervalle minimum de 7 jours.
		0,125 - 0,5 kg/ha A diluer entre 5 et 30 L d'eau glacée	Epanchage par voie aérienne avec un épandeur de granulés glacés en hélicoptère, aéronef	
Moustiques Genres : <i>Culex spp</i> et <i>Culiseta spp</i> , <i>Aedes</i> (<i>Ochlerotatus</i>) <i>spp</i> <i>Anopheles</i> <i>spp</i> stades larvaires L1 jusqu'au début de L4	Eaux relativement sales, polluées, ou contenant des taux importants de matière organique où les larves se prolifèrent tels que les eaux usées, effluents et lagunes d'eaux usées, fosses septiques, lagunes de déjections d'animaux et fumier, les rizières, etc.	0,5 - 1 kg/ha A diluer entre 2,5 et 500 L d'eau/ha	Pulvérisation par voie aérienne, avec des buses pour limiter 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) Pulvérisation par voie terrestre - Pulvérisation par pompe à pression portable. - Pulvérisation par souffleur portable motorisé - Pulvérisation par	Appliquer par les professionnels au maximum 8 fois par saison avec un intervalle minimum de 7 jours.

Avis de l'Anses
Avis n° PB-13-00305
VECTOBAC WG

			équipement motorisé monté sur véhicule.	
		0,5 - 1 kg/ha A diluer entre 2,5 et 1000 L d'eau/ha	Pulvérisation par équipement motorisé monté sur véhicule	
		0,5 - 1 kg/ha A diluer entre 5 et 30 L d'eau glacée	Epandage par voie aérienne avec un épandeur de granulés glacés en hélicoptère, aéronef	

Annexe 2

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

Organismes cibles	Doses et volume d'eau de dilution	Méthode d'application	Catégorie d'utilisateur et nombre d'application
<p>Larves de moustiques :</p> <p>stade L1 jusqu'au début L4</p> <p>Genres :</p> <ul style="list-style-type: none"> - <i>Culex spp</i> - <i>Culiseta spp</i>, - <i>Aedes (Ochlerotatus) spp</i> - <i>Anopheles spp</i> 	<p><u>Faible infestation</u></p> <p>0,125 – 0.5 kg/ha</p> <p>À diluer entre 2,5 et 500 L d'eau / ha</p>	<p>Application terrestre</p> <ul style="list-style-type: none"> - par pulvérisation (pulvérisateur manuel à air comprimé, pulvérisateur à dos, atomiseur, pulvérisateur pneumatique monté sur véhicule) <p>Application aérienne</p> <ul style="list-style-type: none"> - par pulvérisation (buses montées sur un aéronef) 	<p>Appliquer par les professionnels de la désinsectisation dans les gîtes larvaires au maximum 8 fois par saison avec un intervalle minimum de 7 jours</p>
	<p><u>Faible infestation</u></p> <p>0,125 – 0.5 kg/ha</p> <p>À diluer entre 5 et 30 L d'eau glacée / ha</p>	<p>Application aérienne</p> <ul style="list-style-type: none"> - par épandage des granulés glacés (épandeur de granulés glacés monté sur un aéronef ou un hélicoptère) 	
	<p><u>Forte infestation</u></p> <p>0,5 – 1 kg/ha</p> <p>À diluer entre 2.5 et 500 L d'eau / ha</p>	<p>Application terrestre</p> <ul style="list-style-type: none"> - par pulvérisation (pulvérisateur manuel à air comprimé, pulvérisateur à dos, atomiseur, pulvérisateur pneumatique monté sur véhicule) <p>Application aérienne</p> <ul style="list-style-type: none"> - par pulvérisation (buses montées sur un aéronef) 	
	<p><u>Forte infestation</u></p> <p>0,5 – 1 kg/ha</p> <p>À diluer entre 2,5 et 1000 L d'eau / ha</p>	<p>Application terrestre</p> <ul style="list-style-type: none"> - par pulvérisation par équipement motorisé monté sur véhicule 	
	<p><u>Forte infestation</u></p> <p>0,5 – 1 kg/ha</p> <p>À diluer entre 5 et 30 L d'eau glacée / ha</p>	<p>Application aérienne</p> <ul style="list-style-type: none"> - par épandage des granulés glacés (épandeur de granulés glacés monté sur un aéronef ou un hélicoptère) 	