

# La lutte antivectorielle dans le cadre de l'épidémie de chikungunya sur l'Île de la Réunion

Évaluation des risques et de  
l'efficacité des produits larvicides

- **Avis de l'Afsset**
- **Synthèse bibliographique de l'Institut de recherche pour le développement**
- **Rapports du Consultancy for Environmental and Human Toxicology and Risk Assessment**



agence française de **sécurité sanitaire**  
de l'environnement et du travail

Octobre 2007



**La Directrice générale**

Maisons-Alfort, le 15 Oct. 2007

**AVIS**

de l'Agence française de sécurité sanitaire de l'environnement et du travail

**Relatif à l'évaluation comparée des risques et de l'efficacité des produits de lutte antivectorielle larvicide dans le cadre de la lutte contre l'épidémie de Chikungunya****Saisine Afsset n° 2006/008**

L'Agence française de sécurité sanitaire de l'environnement et du travail a été saisie le 24 août 2006 par le ministère de la santé et des solidarités, le ministère de l'écologie et du développement durable et le ministère de l'emploi, de la cohésion sociale et du logement pour conduire une évaluation comparée des produits larvicides utilisables en lutte antivectorielle dans le contexte épidémique de l'Île de la Réunion par le virus du Chikungunya.

**Méthode d'expertise et questions instruites**

- Identification par l'Afsset, l'IRD et les ministères de deux substances dont l'efficacité et les profils toxicologiques et écotoxicologiques permettraient d'envisager la substitution du Bti (lui-même introduit après une première utilisation du téméphos) :
  - pyriproxifène
  - spinosad
- Consultation du Comité d'experts spécialisés (CES) évaluation des risques liés aux substances et produits biocides le 21 septembre 2006.
- Secrétariat scientifique assuré par l'Afsset ; saisine instruite conformément aux règles qualité en expertise de la norme NFX 50-110.
- Synthèse des données disponibles et évaluation des dangers et des risques de ces substances, réalisée par le Consultancy for Environmental and Human Toxicology and Risk Assessment (CEHTRA).
  - Relecture des rapports pyriproxifène et spinosad par des membres du CES.
  - Auditions de la DPPR (ministère de l'écologie et du développement durable) sur le contexte global de la lutte antivectorielle en France, du CEHTRA et de l'IRD.
  - Validation par le CES de ces travaux le 3 mai 2007 et propositions de recommandations.

- Par ailleurs, un programme d'essai en laboratoire et en conditions semi-contrôlées a été lancé pour évaluer l'efficacité du Bti par rapport aux deux autres substances identifiées, rechercher des phénomènes de résistance et définir les conditions de mise en œuvre des produits.

### **Champ de l'expertise**

L'instruction de cette saisine est centrée sur la recherche de produits insecticides alternatifs de lutte contre les larves du moustique *Aedes albopictus*. Elle s'intègre dans une stratégie globale d'expertise des moyens de lutte contre l'épidémie de Chikungunya pour laquelle l'Afsset a également été saisie :

- saisine du 10 février 2006 relative à l'évaluation comparée des produits de lutte anti-vectorielle adulticides, et demande complémentaire du 24 août 2006 pour évaluer les substituts potentiels (saisine 2006-002)
- saisine du 22 août 2006 relative à l'évaluation des risques liés à l'utilisation des produits insecticides d'imprégnation des moustiquaires et des vêtements (saisine 2006-007)

### **Problématique générale de la saisine :**

Après un premier épisode entre mars et juin 2005, l'épidémie de Chikungunya a repris sur l'Île de la Réunion en octobre 2005. Elle a atteint un pic en février 2006.

L'Institut de veille sanitaire (InVS) estime qu'environ 266 000 personnes ont présenté une forme clinique de la maladie. Des formes sévères de cette maladie ont pour la première fois été décrites.

Pendant la période janvier-décembre 2006 à la Réunion, 246 personnes ont été hospitalisées en réanimation. Une quarantaine de cas de transmission materno-néonatale avec confirmation biologique a été retrouvée ; 254 certificats de décès mentionnant le Chikungunya ont été recensés.

En l'absence de vaccin et de traitement étiologique, la principale voie de contrôle de l'épidémie est la lutte antivectorielle permettant de réduire le moustique transmetteur du virus, *Aedes albopictus*.

Ces opérations doivent être complétées par des mesures de protection individuelle.

La circulation du virus a notablement diminué dès juillet 2006, et les cas sont sporadiques mais *Aedes albopictus* est toujours présent, et près du 2/3 de la population n'est pas immunisées.

Bien que le principal moyen de protection contre les risques liés à la transmission du virus par les piqûres de moustiques, ayant un impact avéré en termes de santé publique, soit la destruction des moustiques (adultes, larves) et des sites larvaires, les travaux d'évaluation des

risques liés aux produits insecticides d'imprégnation des moustiquaires et des tissus conservent donc toute leur pertinence et s'inscrivent dans le contexte de la protection permanente des personnes les plus fragiles.

Dès les premiers signes de l'épidémie, les opérations de lutte antivectorielle ont été engagées. La lutte contre les larves de moustiques a été conduite :

- initialement avec des produits biocides à base de téméphos
- puis par le Bti à compter du 20 février 2006

Néanmoins, l'usage du téméphos a bénéficié d'une prolongation de son autorisation d'utilisation au-delà du 1<sup>er</sup> septembre 2006, pour usage essentiel, dans le cadre de la directive biocides 98/8/CE (Décision de la Commission européenne du 11 avril 2007, arrêté du 10 mai 2007). Cette prolongation, limitée aux Départements français d'Outre-mer et aux opérations de lutte antivectorielle, est accordée jusqu'au 14 mai 2009. Elle a été assortie d'un encouragement à développer des solutions alternatives aux substances actuellement utilisées. L'Afsset a donc été saisie de cette question.

## Evaluation comparée des substances

### Efficacité

Bti :

- rémanence d'action courte (1 semaine)
- pas de résistance connue
- spécificité d'action très importante

Pyriproxyfène :

- rémanence d'action longue (6 semaines)
- impact retardé de quelques jours (inhibiteur du développement des insectes)
- pas de résistance connue, ni croisée avec les autres familles chimiques d'insecticides

Spinosad :

- rémanence d'action courte (1 semaine)
- pas de résistance connue mais manque de données sur les résistances croisées avec les autres familles chimiques d'insecticides

### Propriétés toxicologiques

Bti :

- pas de toxicité aiguë
- pas d'effets chroniques attendus

Pyriproxyfène :

- toxicité aiguë faible
- faiblement irritant pour les yeux
- non-mutagène, non-cancérogène, non-tératogène, non-toxique pour la reproduction

**Spinosad :**

- toxicité aiguë faible
- faiblement irritant pour les yeux
- non-mutagène, non-cancérogène, non-téatogène, non-toxique pour la reproduction

Propriétés physico-chimiques - comportement dans l'environnement**Bti :**

- substance biologique de nature variable : mélange contenant des spores viables ou inactivées de *Bacillus thuringiensis* var *israelensis* et de protoxines insecticides
- variabilité de la composition des formulations de Bti mises sur le marché liée à l'identité des souches productrices et au mélange de spores et de toxines
- persistance dans l'environnement sous forme de spores qui dans certaines conditions conservent un potentiel de germination pendant plusieurs mois

**Pyriproxifène :**

- peu soluble dans l'eau
- peu volatil
- dégradation très rapide dans l'environnement
- formulation en granulés de stabilité allongée et efficacité de 6 semaines
- affinité élevée pour la matière organique (tendance à la rétention dans le sol et à une adsorption élevée sur les particules en suspension dans l'eau)
- potentiel de bioaccumulation élevé avec risque potentiel de bioaccumulation dans les chaînes trophiques

**Spinosad :**

- mélange de spinosyne A et de spinosyne D, à un *ratio* de 86:14
- solubilité modérée de la spinosyne A et faible de la spinosyne D
- peu volatil
- dégradation modérée dans l'environnement
- affinité élevée pour la matière organique (tendance à la rétention dans le sol et à une adsorption élevée sur les particules en suspension dans l'eau)
- potentiel de bioaccumulation élevé avec risque potentiel de bioaccumulation dans les chaînes trophiques

Propriétés écotoxicologiques**Bti :**

- mode d'action particulier lui conférant une absence de toxicité chez tous les organismes n'ayant pas un pH intestinal alcalin ou ne possédant pas les récepteurs des toxines
- modérément toxique pour les organismes aquatiques
- non-toxique pour les oiseaux, les mammifères et les abeilles
- présence à l'état naturel dans le sol de *Bacillus thuringiensis*

Pyriproxyfène et spinosad :

- très toxiques pour les organismes aquatiques (toxicité du pyriproxyfène supérieure à celle du spinosad)
- non-toxiques pour les oiseaux, les mammifères et les vers de terre
- très toxiques pour les abeilles

#### Risques pour l'homme

Bti :

- risque faible pour les opérateurs et les personnes présentes à proximité pendant les opérations d'application

Pyriproxyfène :

- risque faible pour les opérateurs et les personnes présentes à proximité pendant les opérations d'application

Spinosad :

- risque acceptable pour les opérateurs et les personnes présentes à proximité pendant les opérations d'application sous réserve de recommandations de bonnes pratiques dans la stratégie d'utilisation

#### Risques pour l'environnement

Bti :

- risque pour l'environnement faible et limité aux organismes cibles du milieu aquatique
- aucun effet indésirable préoccupant pour l'environnement rapporté en 25 ans d'utilisation à travers le monde malgré la persistance des spores dans l'environnement et leur potentiel de germination

Pyriproxyfène :

- risque pour l'environnement limité au compartiment aquatique, en raison notamment d'une toxicité très importante pour les invertébrés aquatiques
- risques potentiels liés à la persistance dans l'environnement

Spinosad :

- risque pour l'environnement limité aux abeilles et au compartiment aquatique, en raison notamment d'une toxicité très importante pour les invertébrés aquatiques
- risques potentiels liés à la persistance dans l'environnement

### **Besoins de connaissances**

Les limites méthodologiques de cette étude de comparaison des substances larvicides sont liées à la faiblesse des publications utilisables. L'Afsset recommande donc l'amélioration des connaissances portant sur :

#### **Bti :**

- impact sur les arthropodes du sol et la biodiversité aquatique
- toxicité pour l'homme, notamment chronique

#### **Pyriproxyfène et spinosad :**

- intérêt d'un programme de traitement alterné avec du Bti

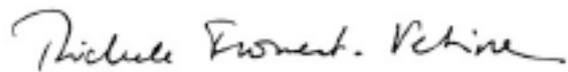
#### **Bti, pyriproxyfène et spinosad :**

- développement de résistances
- toxicité des coformulants
- exposition des opérateurs par :
  - o la réalisation de mesures d'exposition
  - o l'amélioration et/ou le développement de modèles d'exposition, dans la mesure où les modèles actuels sont peu adaptés à la lutte antivectorielle en zone tropicale
- exposition de la population générale via la consommation d'aliments contenant potentiellement des résidus résultant de l'application des produits de traitement ; caractérisation de la bioconcentration de ces produits ou de leurs métabolites dans les produits d'origine animale (volaille, œufs, produits laitiers, ...)
- comportement des substances dans l'environnement dans les conditions spécifiques de l'Île de la Réunion
- contaminations environnementales résiduelles et leur évolution (substance active et produits de dégradation), notamment pour les végétaux, les chaînes trophiques, les écosystèmes aquatiques (surtout l'environnement marin) et les espèces spécifiques de l'Île de la Réunion.

## Stratégie d'utilisation

Dans l'attente de la levée des incertitudes soulevées au cours de cette évaluation, l'Afsset préconise :

- de maintenir le Bti comme substance active larvicide de référence ; d'utiliser préférentiellement des formulations à base de Bti ne contenant pas de spores viables, afin d'éviter toute multiplication incontrôlée du bacille utilisé dans l'environnement après un traitement ;
- en cas de nécessité d'alterner les traitements, d'utiliser les produits à base de pyriproxifène ou de spinosad choisis en fonction des zones à traiter : de préférer le spinosad dans les zones avec plans d'eau permanents et le pyriproxifène dans celles avec ruchers
- dans tous les cas, pour les trois substances, recommandations de bonnes pratiques :
  - o mettre en œuvre des protocoles adaptés pour les applicateurs en s'attachant plus particulièrement :
    - au respect de bonnes pratiques de traitement, et de protections individuelles et collectives
    - au suivi médical des applicateurs
    - à la documentation de leur activité réelle
  - o mettre en œuvre des protocoles adaptés pour la population générale en s'attachant plus particulièrement à :
    - appliquer les recommandations actuelles concernant les protocoles de démoustication
    - appliquer les recommandations actuelles concernant la consommation des végétaux potentiellement contaminés par les traitements
  - o préférer un traitement en véhicule pick-up plutôt qu'en quad afin de limiter l'exposition des opérateurs
  - o protéger les ruchers au moment des traitements par information des apiculteurs
  - o prohiber les traitements en cas de risques de pluies abondantes pouvant entraîner le ruissellement des substances vers des points d'eau de plus grande importance.



Dr Michèle FROMENT-VEDRINE

Annexe : statut du Bti, du pyriproxifène et du spinosad dans les directives européennes  
98/8/CE et 91/414/CEE au 21 mai 2007

substance active	n° CAS / n° CE	Statut 98/8/CE (Etat-membre rapporteur)	Statut 91/414/CEE (Etat-membre rapporteur)
Bti	68038-71-1 / -	recevabilité OK le 02/11/2006 (Italie)	liste 4C de révision des substances actives existantes ; dossier déposé par le notifiant le 30/11/2005 (Italie)
spinosad	168316-95-8 / 434-300-1	recevabilité OK le 22/05/2006 (Pays-Bas)	inscription à l'Annexe I le 01/02/2007 par la directive 2007/6/CE jusqu'au 31/01/2017 (Pays-Bas)
pyriproxifène	95737-68-1 / 429-800-1	recevabilité OK le 11/09/2006 (Pays-Bas)	liste 3A de révision des substances actives existantes ; projet de rapport d'évaluation publié par l'EFSA* le 05/09/2006 (Pays-Bas)

\* European Food Safety Authority

---

## La lutte antivectorielle dans le cadre de l'épidémie de Chikungunya sur l'Île de la Réunion

### Évaluation des risques et de l'efficacité des produits larvicides

Saisines n° 2006/001 et n° 2006/008

---

## RAPPORT

Octobre 2007

Saisine n° 2006/001

- Rapport du CEHTRA sur l'évaluation des risques liés à l'utilisation du téméphos
- Formulaire de la demande d'usage essentiel du téméphos en lutte antivectorielle, déposée par le Ministère de l'écologie et du développement durable pour la France
- Décision de la Commission européenne du 11 avril 2007 relative à la prolongation de l'autorisation de mise sur le marché et d'utilisation du téméphos
- Arrêté du 10 mai 2007 relatif à la prolongation de l'autorisation de mise sur le marché et d'utilisation du téméphos

Saisine n° 2006/008

- Avis de l'Afsset
- Synthèse bibliographique de l'IRD sur les insecticides disponibles pour la lutte antivectorielle
- Rapport du CEHTRA sur l'évaluation des risques liés à l'utilisation du Bti (*Bacillus thuringiensis var. israelensis*)
- Rapport du CEHTRA sur l'évaluation des risques liés à l'utilisation du pyriproxyfène
- Rapport du CEHTRA sur l'évaluation des risques liés à l'utilisation du spinosad

---

**COMITE D'EXPERTS SPECIALISES (CES) « EVALUATION DES RISQUES LIES AUX SUBSTANCES ET PRODUITS BIOCIDES »**

---

- M. Calmels (Régis), biologiste, consultant et gérant de la société R2CK ;
- M. Chiron (Jean-Paul), professeur des universités (microbiologie) à l'Université F. Rabelais de Tours - Unité de formation et de recherche de pharmacie ;
- Mme Collot (Valérie), professeur des universités (pharmacognosie) à l'Université de Caen – Unité de formation et de recherche de pharmacie ;
- Mme Crémieux (Andrée), professeur des universités (microbiologie) à l'Université de la Méditerranée - Unité de formation et de recherche de pharmacie ;
- M. Delaforge (Marcel), docteur en biochimie, directeur de recherche au Centre national de la recherche scientifique au centre d'études de Saclay ;
- M. Deroubaix (Gérard), docteur en chimie, responsable environnement au Centre technique du Bois et de l'Ameublement ;
- M. Devillers (James), docteur en écologie, directeur du Centre de traitement de l'information scientifique ;
- M. Forster (Roy), docteur en toxicologie de l'environnement, directeur scientifique du Centre international de toxicologie ;
- Mme Gamelin (Laurence), médecin, praticien hospitalier au centre antipoison régional des pays de Loire ; CHU Angers ;
- Mme Gomez (Elena), maître de conférences (hydrosciences) à l'Université de Montpellier 1 - Unité de formation et de recherche de pharmacie ;
- M. Hubert (François), docteur en pharmacie, gérant de la Société François Hubert ;
- M. Jaeg (Jean-Philippe), maître de conférences (pharmacie-toxicologie) à l'École nationale vétérinaire de Toulouse ;
- M. Lemazurier (Emmanuel), docteur en biologie, ingénieur à l'Institut national de l'environnement et des risques ;
- M. Maris (Pierre), docteur en pharmacie et en sciences pharmaceutiques, directeur adjoint du Laboratoire d'études vétérinaires sur les médicaments et les désinfectants de l'Agence française de sécurité sanitaire des aliments ;
- M. Paris (Jacques), vétérinaire, consultant au sein de JP consultant ;
- M. Périchaud (Alain), professeur des universités (chimie des matériaux) à l'Université de Saint-Jérôme - Institut universitaire professionnalisé « génie des matériaux » ;
- M. Pontal (Pierre-Gérard), médecin, gérant et expert en toxicologie de la société Consultancy for Environmental and Human Toxicology and Risk Assessment ;
- Mme Quiniou (Françoise), biologiste, cadre de recherche à l'Institut français de recherche pour l'exploitation de la mer ;
- Mme Rambourg (Marie-Odile), docteur en pharmacie, toxicologue à l'Institut de veille sanitaire ;
- Mme Roques (Christine), professeur des universités (génie microbien, hygiène, environnement) à l'Université Paul Sabatier Toulouse III – Unité de formation et de recherche de pharmacie, attachée des hôpitaux de Toulouse ;
- M. Ryffel (Bernhard), médecin, directeur de recherche au Centre national de la recherche scientifique à l'Institut de la transgénése à Orléans ;

- 
- M. Sandouk (Pierre), maître de conférences (chimie analytique et pharmacocinétique) à l'Université René Descartes, Paris V – Unité de formation et de recherche des sciences pharmaceutiques et biologiques, praticien attaché à l'Assistance publique – hôpitaux de Paris
  - M. Truchot (Eric), ingénieur en agriculture, consultant indépendant.

#### **Coordination scientifique Afsset**

- M. Briand (Olivier), chef de projets scientifiques,
- M. Rousselle (Christophe), chef d'unité « substances chimiques »,
- M. Yamada (Ohri), chargé de projets scientifiques.

#### **Secrétariat administratif Afsset**

- Mme Collet (Romy), assistante,
- Mme Quesnel (Véronique), assistante.

#### **AUDITIONS**

---

- DPPR – Ministère de l'écologie et du développement durable<sup>1</sup> (Mme Drugeon (Sylvie)) : séance du 5 octobre 2006,
- CEHTRA (M. Rolland (Mathieu)) : séance du 4 janvier 2007,
- IRD (M. Darriet (Frédéric)) : séance du 4 janvier 2007,
- CEHTRA (M. Adrian (Philippe)) : séance du 3 mai 2007.

#### **EXAMEN DES RAPPORTS**

---

- Le rapport sur l'évaluation des risques liés à l'utilisation du téméphos a été soumis pour commentaires aux rapporteurs désignés du CES : Mme Gomez et Mme Rambourg. Après prise en compte de leurs commentaires, le rapport a été approuvé par les rapporteurs le 24 mars 2006.
- La synthèse bibliographique sur les insecticides disponibles pour la lutte antivectorielle a été soumise pour approbation au CES. Le rapport a été examiné par ses membres le 4 janvier 2007.
- Les rapports sur l'évaluation des risques liés à l'utilisation du pyriproxyfène et du spinosad ont été soumis pour commentaires aux rapporteurs du CES : M. Devillers et Mme Quiniou. Après commentaires des rapporteurs et discussions au sein du CES lors des séances du 4 janvier 2007 et du 8 mars 2007, le CES a rendu ses conclusions sur les risques et l'efficacité liés à l'utilisation du pyriproxyfène et du spinosad le 3 mai 2007.

---

<sup>1</sup> Actuel Ministère de l'écologie, du développement et de l'aménagement durable

- Le rapport sur l'évaluation des risques liés à l'utilisation du Bti a été soumis pour commentaires aux rapporteurs du CES : M. Devillers, Mme Quiniou et Mme Roques.  
Après commentaires des rapporteurs et discussions au sein du CES lors de la séance du 8 mars 2007, le CES a rendu ses conclusions sur les risques et l'efficacité liés à l'utilisation du Bti le 3 mai 2007.

## MOTS CLES

Chikungunya ; Île de la Réunion ; lutte antivectorielle ; moustique ; *Aedes albopictus* ; efficacité ; risques ; insecticide ; larvicide ; téméphos ; pyriproxifène ; spinosad ; Bti.

## RESUME

En l'absence de vaccin et de traitement étiologique, l'unique voie de contrôle du Chikungunya est la lutte antivectorielle. En complément à la destruction mécanique des gîtes larvaires, deux types de traitements sont effectués : les traitements adulticides, réservés aux périodes épidémiques et les traitements larvicides visant les gîtes larvaires constitués par les eaux stagnantes. Lors de la phase épidémique de Chikungunya à la Réunion en février 2006, le Bti a rapidement remplacé le téméphos. Le maintien de ces substances ainsi que la recherche de nouveaux produits sont indispensables afin de disposer de plusieurs insecticides pour répondre au développement éventuel de résistances. Le pyriproxifène et le spinosad ont ainsi été retenus comme substituts potentiels sur la base de leur efficacité et de leurs risques attendus pour l'homme et l'environnement.

Les risques liés à l'utilisation de ces insecticides ont été évalués selon les schémas d'évaluation réglementaires européens utilisés pour les pesticides et les biocides et sur la base de synthèses publiées par des organismes évaluateurs officiels. Leur efficacité a été évaluée à partir de données bibliographiques. Etant donné le contexte d'urgence, l'évaluation a été simplifiée pour permettre une réponse rapide.

Alors qu'il devait être retiré du marché le 1<sup>er</sup> septembre 2006 en application de la Directive européenne 98/8/CE, le téméphos a obtenu une prolongation de son autorisation jusqu'au 14 mai 2009, uniquement dans les départements français d'Outre-Mer et pour des usages de lutte antivectorielle, suite à l'approbation par la Commission européenne de la demande d'usage essentiel. Actuellement substance de référence, le Bti présente une spécificité d'action importante et peu de risques pour l'homme et l'environnement. Bien que leurs risques soient plus importants que le Bti, le pyriproxifène et le spinosad constituent des alternatives intéressantes car elles complèteraient la gamme de substances disponibles pour mieux gérer le développement éventuel de résistances et elles permettraient d'adapter les traitements aux spécificités des zones à traiter.

La pertinence dans ce contexte de ces évaluations basées sur des modèles d'exposition utilisés pour les pesticides et les biocides est toutefois sujette à discussion en raison notamment de la difficulté de les adapter aux spécificités de la lutte antivectorielle sur l'Île de la Réunion. Par ailleurs, leur efficacité réelle est en cours d'évaluation dans le cadre d'essais de laboratoire et de terrain dans des conditions semi-opérationnelles.

---

**SOMMAIRE**

---

<b>1. Introduction générale .....</b>	<b>6</b>
<b>2. Saisine n° 2006/001.....</b>	<b>8</b>
<b>2.1. Contexte, objet et modalités de traitement de la saisine.....</b>	<b>8</b>
2.1.1. Contexte de la saisine .....	8
2.1.2. Objet de la saisine .....	8
2.1.3. Traitement de la saisine.....	8
2.1.4. Suites de la saisine.....	9
<b>2.2. Synthèse des données disponibles en matière de propriétés physico-chimiques, toxicologiques et écotoxicologiques et évaluation des risques pour l'homme et l'environnement du téméphos (mars 2006) .....</b>	<b>11</b>
<b>3. Saisine n° 2006/008.....</b>	<b>135</b>
<b>3.1. Contexte, objet et modalités de traitement de la saisine.....</b>	<b>135</b>
3.1.1. Contexte de la saisine .....	135
3.1.2. Objet de la saisine .....	135
3.1.3. Traitement de la saisine.....	135
<b>3.2. Revue des insecticides larvicides et aduicides disponibles pour les opérations de lutte contre les moustiques (juillet 2007).....</b>	<b>138</b>
<b>3.3. Bti : évaluation des risques pour l'homme et l'environnement (juillet 2007) .....</b>	<b>190</b>
<b>3.4. Pyriproxifène : évaluation des risques pour l'homme et l'environnement (juillet 2007) .....</b>	<b>311</b>
<b>3.5. Spinosad : évaluation des risques pour l'homme et l'environnement (juillet 2007) .....</b>	<b>416</b>
<b>4. Annexes.....</b>	<b>537</b>

## 1. Introduction générale

Après un premier épisode entre mars et juin 2005, l'épidémie de Chikungunya a repris sur l'Île de la Réunion en octobre 2005. Elle a atteint un pic en février 2006. L'Institut de veille sanitaire (InVS) estime qu'à la date du 25 mai 2007 et pour l'ensemble de la période épidémique, environ 266 000 personnes ont présenté une forme clinique de la maladie. Outre l'ampleur sans précédent de cette épidémie, des formes cliniques sévères (méningo-encéphalites, encéphalopathies ou hépatites fulminantes) ont pour la première fois été décrites pour cette maladie. Jusqu'alors, elle n'était connue que pour causer un syndrome similaire à la dengue d'évolution généralement bénigne, se manifestant par une fièvre, un rash cutané et des arthralgies persistantes. Pendant l'année 2006 sur l'Île de la Réunion, 246 personnes ont été hospitalisées en réanimation. Une quarantaine de cas de transmission materno-néonatale avec confirmation biologique a été retrouvée ; 254 certificats de décès mentionnant le Chikungunya ont été recensés.

En l'absence de vaccin et de traitement étiologique, la principale voie de contrôle de l'épidémie est la lutte antivectorielle permettant de réduire la densité du moustique vecteur du virus, *Aedes albopictus*. Dès les premiers signes de l'épidémie, les opérations de lutte antivectorielle ont été engagées. La lutte contre les larves de moustiques a été conduite :

- initialement avec des produits biocides à base de téméphos,
- puis rapidement avec des produits à base de Bti.

La circulation du virus a notablement diminué dès juillet 2006, et les cas sont désormais sporadiques mais *Aedes albopictus* est toujours présent, et près des deux tiers de la population ne sont pas immunisés. Par ailleurs, « ces territoires, situés en zone tropicale, restent exposés au risque lié aux maladies transmises par des moustiques. En particulier, le paludisme est présent à Mayotte et en Guyane, la dengue dans les départements français d'Amérique », ajoutent le Ministère de la santé et des solidarités et le Ministère de l'outre-mer. Ainsi, selon l'InVS, 792 et 756 cas de paludisme ont été respectivement notifiés à Mayotte en 2003 et 2004, ce qui représente une incidence annuelle d'environ 5,0 ‰. En 2004 en Guyane, 3 281 cas de paludisme (incidence annuelle : 18 ‰) ont été comptabilisés ; 4 415 en 2005 (incidence annuelle : 24 ‰) et 2 750 jusqu'en octobre 2006. Chaque année, au moins 5 décès sont enregistrés. Enfin la Guadeloupe a connu en 2005 une épidémie de dengue au cours de laquelle plus de 1 400 confirmations sérologiques ont été transmises par les laboratoires d'analyse biologique de l'archipel. Plus de 120 personnes ont été hospitalisées, dont 7 touchées par la forme hémorragique. Le nombre total de personnes ayant contracté la maladie au cours de cette épidémie est estimé à plus de 7 000.

Dans ces conditions, l'évaluation des risques et de l'efficacité des produits larvicides utilisés dans le cadre de la lutte antivectorielle s'avère indispensable.



## 2. Saisine n° 2006/001

### 2.1. Contexte, objet et modalités de traitement de la saisine

#### 2.1.1. Contexte de la saisine

Dans le cadre de la gestion de la crise due à l'épidémie de Chikungunya sur l'Île de la Réunion, le Directeur général de la santé (DGS - Ministère de la santé et des solidarités), le Directeur de la prévention des pollutions et des risques (DPPR - Ministère de l'écologie et du développement durable<sup>2</sup>) et le Directeur des relations au travail<sup>3</sup> (DRT - Ministère de l'emploi, de la cohésion sociale et du logement) ont confié à l'Afsset le 26 janvier 2006, une saisine relative à l'évaluation des dangers et des risques pour l'homme et l'environnement du téméphos en vue d'une demande d'usage essentiel.

L'instruction de cette saisine s'intègre dans une stratégie globale d'expertise des moyens de lutte contre l'épidémie de Chikungunya pour laquelle l'Afsset a également été saisie :

- Saisine du 10 février 2006, relative à l'évaluation comparée des produits de lutte antivectorielle adulticides, et demande complémentaire du 24 août 2006 pour évaluer les substituts potentiels ;
- Saisine du 24 août 2006, relative à l'évaluation comparée des produits larvicides utilisables en lutte antivectorielle ;
- Saisine du 22 août 2006, relative à l'évaluation des risques liés à l'utilisation des produits insecticides d'imprégnation des moustiquaires et des vêtements.

#### 2.1.2. Objet de la saisine

Le téméphos est une substance active biocide, utilisée dans des insecticides destinés à la lutte contre les gîtes larvaires en milieu naturel, qui entre dans le champ d'application de la Directive européenne 98/8/CE du Parlement européen et du Conseil du 16 février 1998, concernant la mise sur le marché des produits biocides.

Cette substance a été identifiée comme étant une substance active biocide existante sur le marché communautaire avant le 14 mai 2000. En revanche aucun industriel n'avait annoncé son intention de déposer un dossier en vue de l'inscription de cette substance active à la liste des substances actives biocides autorisées au niveau communautaire. Elle ne devait donc plus être mise sur le marché à partir du 1<sup>er</sup> septembre 2006.

Compte tenu de l'importance de cette substance active aujourd'hui pour les opérateurs français de démoustication, et de la nécessité de la lutte antivectorielle, le Ministère de l'écologie et du développement durable, autorité compétente pour la mise en œuvre de la Directive européenne 98/8/CE en France, a sollicité l'expertise de l'Afsset pour l'évaluation des dangers et des risques pour l'homme et l'environnement en vue du dépôt d'une demande d'usage essentiel.

#### 2.1.3. Traitement de la saisine

A l'issue de la présentation de la saisine 2006/001 au CES de février 2006, il a été convenu que la saisine fasse l'objet d'une procédure simplifiée du fait de l'urgence de la réponse attendue (25 mars 2006).

<sup>2</sup> Actuel Ministère de l'écologie, du développement et de l'aménagement durable

<sup>3</sup> Actuel Directeur général du travail

Il s'agissait pour l'Afsset, dans un premier temps, de réaliser : une synthèse des informations disponibles relatives à la physico-chimie de la substance et à ses dangers pour l'homme et pour l'environnement ; une évaluation des risques sommaire pour le travailleur, le consommateur, l'homme à travers l'environnement et l'environnement, pour l'usage de cette substance en traitement des gîtes larvaires en milieu naturel.

La synthèse et l'évaluation réalisées se sont basées sur :

- les données générales, disponibles dans la littérature, relatives à la substance, qui ont été collectées par l'Afsset ;
- des données, en particulier relatives aux dangers de la substance et à ses modes précis d'utilisation, transmises par les opérateurs de démoustication, les fabricants de la substance ou des préparations ;
- des scénarios d'exposition génériques relatifs à ce type d'usage en l'absence de données sur l'exposition.

Les travaux de synthèse et d'évaluation, ainsi que la rédaction du rapport ont été confiés au CEHTRA, qui a été choisi à la suite de l'appel d'offre du 17 février 2006. La validation du rapport a été confiée à deux experts du CES, Mme Gomez et Mme Rambourg, avec l'appui des scientifiques de l'Afsset.

Les auteurs du rapport, les experts et les scientifiques de l'Afsset se sont réunis le 20 mars 2006 afin de discuter des corrections à apporter à la première version du rapport. Le 30 mars 2006, la réponse à la saisine a été envoyée aux ministères.

Au regard du rapport remis le 30 mars 2007 par l'Afsset sur l'évaluation des risques et des dangers liés à l'usage du téméphos, les autorités françaises ont déposé un dossier devant la Commission européenne le 31 mai 2006.

Celui-ci a été jugé acceptable par la Commission européenne et les États membres et l'autorisation du téméphos a été prolongée jusqu'au 14 mai 2009. Cette autorisation est toutefois limitée aux départements d'outre-mer et aux professionnels de la démoustication, dans le cadre d'opérations de lutte antivectorielle.

#### *2.1.4. Suites de la saisine*

L'article 4 bis du règlement 2032/2003 de la Commission, indique que les États membres peuvent demander un usage essentiel lorsqu'ils estiment qu'une substance active non notifiée, et qui donc devait être retirée du marché au 1er septembre 2006, leur est essentielle pour des raisons de santé, de sécurité ou de protection du patrimoine culturel ; ou qu'elle est indispensable au bon fonctionnement de la société, ceci en l'absence de solutions de remplacement ou de substituts techniquement et économiquement envisageables, qui soient acceptables du point de vue de l'environnement et de la santé. Cette dérogation ne peut aller au-delà de 2010.

Au regard du rapport remis le 30 mars 2006 par l'Afsset sur l'évaluation des risques et des dangers liés à l'usage du téméphos et de l'importance d'avoir à disposition des produits efficaces et variés pour contribuer à la lutte contre la diffusion d'une épidémie, notamment dans les zones où les maladies vectorielles sont endémiques, les Autorités françaises ont déposé un dossier de demande d'usage essentiel le 31 mai 2006.



## **2.2. Synthèse des données disponibles en matière de propriétés physico-chimiques, toxicologiques et écotoxicologiques et évaluation des risques pour l'homme et l'environnement du téméphos (mars 2006)**



---

**Synthèse des données disponibles en matière de propriétés physico-chimiques, toxicologiques et écotoxicologiques et évaluation des risques pour l'Homme et l'Environnement du Téméphos**

Dossier réalisé dans le cadre d'une éventuelle demande de dérogation pour usage essentiel (directive biocides 98/8/CE)

---

**Saisine n° 2006/001**

**RAPPORT**

**Réalisé par la société CEHTRA**

**Mars 2006**



# TEMEPHOS

## Evaluation for derogation for essential use

**DATE**

**mars 2006**



# TEMEPHOS

## Document content

1- Summary of Physical chemical properties; Ecotoxicological information; Environmental risk assessment; Ecological risk assessment	20
2- Summary of Toxicological and human exposure	28
3- Physical-chemical properties - Environmental risk assessment	33
4- Ecological risk assessment	57
5- Toxicology	87
6- Exposure evaluation and risk assessment	106



# **TEMEPHOS**

**Summary of Physical-Chemical properties  
Environmental information and risk  
assessment  
Ecotoxicological information and risk  
assessment**

**DATE**

**Mars 2006**

Temephos is an organophosphate insecticide which is widely used for larval control.

Several formulations are currently used in Europe for this purpose:

Commercial name	Active content	substance	Formulation type	Authorised dose
Abate 500 E moustiques	500 g/L		EC	125 g/ha
Larviphos 500 EC	500 g/L		EC	125 g/ha
Abate 1% granule moustiques	500 g/L		EC	125 g/ha

As individual reports were not available to the reviewer, this evaluation is based on reviews previously conducted by different official bodies (references indicated in part I of the reference section). The references of individual studies, when found, are indicated in part II.

## 1 PHYSICAL CHEMICAL PROPERTIES

Melting point: 30-30.5 °C

Boiling point: 120-125 °C

Relative density: 1.32 g/cm<sup>3</sup>

Vapour pressure: 7.17 10<sup>-6</sup> Pa (20 °C)

Henry's law constant: 0.148 Pa m<sup>3</sup> mol<sup>-1</sup>

Appearance: Analytical grade: white crystalline solid (EPA)

Technical grade: brown, viscous liquid

Solubility in water: 0,03 mg/L (25 °C)

Solubility in organic solvents: soluble in common organic solvents as diethyl ether, aromatic and chlorinated hydrocarbons. Solubility in hexane is 9.6 g/L.

Partition coefficient n-octanol / water: 4.91 Log Pow

Thermal stability: stable in normal conditions of temperature and pression

Flash point: >93°C (closed cup)

Explosive properties: Non-explosive

Oxidizing properties: Non-oxidizing potential

## 2 ENVIRONMENTAL ENDPOINTS

Temephos is dissipated rapidly in soil half life between 12 days (laboratory data, Pesticide Manual) and 30 days (field data, INRA).

According to EPA study, in water-sediment system, half life of temephos has been evaluated to be of 27.2 days as a maximal value (anaerobic system). In water phase, the major identified metabolites were temephos sulphide phenol and temephos sulfone phenol, none of

these bear the organophosphate group and have insecticide action. Two others none identified metabolites over passed the threshold of 10% AR in the water phase. In the sediment phase a single major and non identified metabolite was detected at a level over 10% AR.

In water the main degradation pathway is photolysis with a half life of 15 days. The only major metabolite was temephos sulfoxide with a maximum occurrence of 11% AR.

At the reverse hydrolysis is not a major degradation pathway with a half life of 460 days at pH7. Hydrolysis increased with pH and no major metabolite was formed (EPA study)

Adsorption of temephos on soil is very high with Koc estimation from 8 421 to 31 800. Consistently with this important adsorption on soil and according to the regional approach with Mackay Model III, the major amount of temephos is likely to be encountered in soil (61% of total amount). Calculation of PEC ground water with FocusPELMO 3.3.2 showed that percolation of temephos is not significant. The threshold of 0.1µg/L is never reached.

Instantaneous and average Predicted Environmental Concentrations had been calculated, taking into account 6 applications rate of 125 g as/ha of temephos, with a time interval between 2 applications of 10 days. The results are the following:

	Initial PEC	PEC after last application	Time weighted average PEC	Units
Surface Water	42	114	55 (42 days)	µg/L
Sediment	-	1489	1467(42 days)	µg/kg dry sediment
Soil	0.014	0.050	0.036 (30 days)	mg/kg wet soil
Soil, agriculture	0.014	0.050	0.012 (180 days)	mg/kg wet soil
Soil, grassland	0.028	0.101	0.024 (180 days)	mg/kg wet soil

### 3 ECOTOXICOLOGICAL INFORMATION

#### Aquatic toxicity

The toxicity of temephos has been assessed towards various aquatic species.

Temephos shows a wide range of toxicity to aquatic organisms, depending on the formulation. Generally the technical grade active ingredient (TGAI) is moderately toxic and the emulsifiable concentrate (EC) formulations are highly to very highly toxic. The toxicities of the both formulations (EC and CG) are of the same order of magnitude. The formulation EC is slightly more toxic on *Daphnia magna* and on the pink shrimp.

The most sensitive species is the invertebrate species and *Daphnia magna* is extremely sensitive. Freshwater aquatic invertebrates such as amphipods are highly susceptible to temephos as are some marine invertebrates. The formulation EC is highly toxic to the saltwater species, the pink shrimp (LD<sub>50</sub> 0.005 mg/l) and the Eastern oyster (LD<sub>50</sub> 0.014 mg/L). The compound is nearly non-toxic to the bull frog with an LD<sub>50</sub> of greater than 2000 mg/kg (Extonet PIP).

The most sensitive species of fish is the rainbow trout with a LD<sub>50</sub> ranging from 0.16 (formulation EC) to 3.49 mg/kg (TGAI). Other LD<sub>50</sub> values for temephos are close to or higher than 10 mg/L for the TGAI. Other LD<sub>50</sub> values for formulation EC ranged from 1 to and 7 mg/L.

Temephos has the potential to accumulate in aquatic organisms ( $\log P > 4$ ). The bluegill sunfish accumulated 2,300 times the concentration present in the water. However, the exposure time under conditions of uses ie in ponds or moving waters is supposed to be very low due to the very high adsorption onto colloids (Koc of ca. 22 000), and the  $DT_{50}$  in the water phase is expected therefore to be of few days or less. In addition, nearly 75% of the compound was eliminated from the fish after exposure ended.

Field studies were assessed by the US-EPA (Environmental Protection Agency). The majority of them are conducted in marine environment, which is not representative of the defended essential use: aquatic tested species are different and not always representative of the environment in which the product is applied. The tested doses are lower than the recommended dose. No additional details are available. However, these studies are important because they show that, in systems more complex than the laboratory conditions, there is an important recovery of the medium in the days or weeks which follow the applications.

*These aquatic field studies have demonstrated that*

- 1. Non-target aquatic invertebrate populations tend to reestablish to their original population levels within three weeks after application (Fortin, et. al., 1976). In another study, (Liem, et. al., 1976) Cladocerans appeared to be the most sensitive taking 7 days to recover after two applications. The other three representatives tested (copepods, ostracods, and damselflies) reestablished after 48 hours. In another study, (Siefert, et. al., 1986) observed recovery to the zooplankton community, but growth patterns were altered.*
- 2. Ten applications of the granular 2G formulation did not appear to affect survival, growth, or behavior in fish, but growth retarding effects were observed after 4 applications of the liquid Abate 4E formulation (Forgash, et. al., 1976). No acute mortality, growth effects, or acetylcholinesterase inhibition was observed in bluegill (Siefert, et.al., 1981). No acute effects were observed in pinfish, sheepshead minnows, or snook (Pierce, et. al., 1988).*
- 3. A Florida salt marsh field study concluded that there was no acute toxicity to adult fiddler crabs when salt marsh areas were treated three times at 2-week intervals at a rate of 27.7 g/ha (0.031 lb ai/A) (Pierce, et. al., 1989). However, continued work in 1990 concluded that there was a 30% mortality of the fiddler crab larvae (*Uca rapax*) and a 20% mortality of the mangrove tree crab larvae (*Aratus pisonii*) six hours after application (Pierce, et. al., 1990). A further 1993 study concluded that concentrations in salt marsh water resulting from an application rate of 27.7 g/ha is suspected of having adverse effects on the fiddler crab and the mangrove tree crab.*

*A number of the conducted field studies relating to the fate of temephos under field conditions have verified much of the laboratory data which was reviewed. In addition, much information concerning residue concentrations in various media has been obtained.*

*Some field studies confirm the laboratory data which characterizes temephos as not persisting in the water column. According to one study temephos was not detectable (although no limit of detection (LOD) was given in the report) in tidal waters for more than 24 hours (Pierce, et. al., 1989). In a 1990 study residues in water after application ranged from 0.6 to 108  $\mu\text{g/L}$  (Pierce et. al., 1990). Temephos concentration after 1 hour ranged from 3 to 10  $\mu\text{g/L}$  at low tide in a mid-marsh site and 1.0 to 1.8  $\mu\text{g/L}$  at high tide 5 hours after application in a 1993 study (Pierce, et. al., 1993).*

*A study conducted in 1972 by American Cyanamid concluded that temephos was rapidly adsorbed to sediment and converted to temephos sulfoxide. The measured concentration of temephos sulfoxide was 400  $\mu\text{g/L}$ . There was also evidence to show that the liquid temephos formulation was up to 10 times more concentrated at the water's surface (Pierce et. al., 1990). Although not quantified, granular applications resulted in very low sub-surface concentrations (Carey, et. al., 1976).*

*Residues detected in sediment showed a wide range of results. A 1981 study did not detect temephos in sediment from 1 hour to 14 days (Siefert, et. al., 1986). A study from 1972 showed temephos sediment concentrations of 530  $\mu\text{g/L}$  (American Cyanamide, 1972).*

*Another study showed a small but consistent amount of temephos in sediment for up to 168 hours (Pierce, et. al., 1989). The most recent study which monitored temephos sediment over a three year period (1995-97), did not detect temephos in the sediment after 24 hours (Pierce, et. al., 1998). Temephos was detected in various media substrates as well as sediment in many of the studies. A 1976 study found that Abate was transferred to surfaces of plant, algae, and other available materials within 24 hours (Carey et. al, 1976). Temephos was also found to remain on leaf surfaces and tidal pools for up to 72 hours, most, however, was dissipated into the estuary by tidal flushing (Pierce, et.*

al., 1988). Temephos residues found in leaf litter persisted up to 96 hours after application (Pierce, et al., 1989). Small concentrations of temephos were also recovered from the fiddler crab and mangrove tree crab as well as the coffee bean snail, ribbed mussel, and sheepshead minnow, however quantities were not given (Pierce, et al., 1990). Temephos residues in Crab ranged from 60 to 3,110 ppb after 2<sup>nd</sup> treatment (American Cyanamide, 1972). In a 1988 study temephos was not detected in oysters 72 hours after treatment (Pierce, et al., 1988). Mussels did not accumulate in detectable quantities 24 hours after application in a 1989 study (Pierce, et al., 1989).

Effects of temephos on zooplankton communities were studied in enclosures in a shallow eutrophic lake (Hanazato et al., 1989). The equivalent of 500 µg active substance was applied as Abate insecticide with 5% of temephos and containing 90% xylene.

In conclusion, the population of cladocerans is severely affected and did not show a recovery under the tested conditions (equivalent of 500µg/L and during maximum of 40 days). Less severe effects were noted for the other populations of copepods and rotiferans.

### Risk assessment for aquatic organisms

The most sensitive species is the invertebrate species and *Daphnia magna* is extremely sensitive. Freshwater aquatic invertebrates such as amphipods are highly susceptible to temephos as are some marine invertebrates. EC<sub>50</sub> = 0.011 µg/L (study conducted on *Daphnia magna* with formulation EC).

However, the size of the assessment factor depends on the confidence with which a PNEC<sub>water</sub> can be derived from the available data. Data are available for several fish species, for invertebrates, for molluscs and crustacean. Because the substance was tested on various species given information on the inter-species variation, it may lead to a lowered assessment factor :100.

Then, the calculated PNEC is: PNEC<sub>temephos</sub> = 1.1.10<sup>-4</sup> µg/L

PEC<sub>surface water</sub> = 0.114 mg/L

PEC/PNEC using these conservative figures indeed would lead to a serious concern to aquatic organisms especially under the proposed conditions of uses. Aquatic invertebrates (or copepods) are considered the most sensitive species, to the exception of larvae of insects and will demonstrate these populations at risks when temephos is used as recommended. Due to its environmental properties (low solubility in water, high adsorption onto colloids, fast dissipation in water phase and in the whole water sediment system) the impact would be limited in time and recuperation was shown to occur within weeks. Therefore a PNEC mesocosm should be a more reliable end point to take into account these properties. Actually under the proposed conditions of use, not all the field data which could be used for a proper mitigation of risks or a refined risks assessment.

### **Non-target terrestrial animals toxicity**

Because Temephos is only applied directly to water, it is not expected to have a direct impact upon terrestrial animals. Birds and mammals are not exposed to the formulation by feeding contaminated plants or plant part. Terrestrial animals may be exposed to temephos via drinking water.

Additionally, due to the tendencies for temephos to bioconcentrate, a piscivorous bird or mammal scenario was proposed to assess the risk to fish-eating birds and mammals.

#### Toxicity on birds

Tests with various wildlife species were conducted to assess the toxicity of temephos on birds. The toxicity data are reported in the following table. Acute and short-term toxicity data indicate that the bobwhite quail is the most sensitive species and demonstrate that temephos is relatively toxic by ingestion to birds with an acute LD<sub>50</sub> of 27.4 mg/kg b.w. and a dietary LC<sub>50</sub> of 92 ppm mg/kg b.w.

The acute LD<sub>50</sub> are relatively homogenous: 35.4 mg/kg b.w. for House sparrow, 31.5 mg/kg b.w. for Pheasant, 84 mg/kg b.w. for Japanese quail and 80-2150 mg/kg b.w. for Mallard duck.

The dietary LC<sub>50</sub> are 50.1 ppm for pigeon, 150-170 ppm for Pheasant, 230-270 ppm for Japanese quail, 894-1400 ppm for mallard duck.

According to a study of oral ADME (adsorption, distribution, metabolism and excretion) in rats and pigs, excretion is complete within 96 h, 65% in faeces mainly as parent compound, 33% in urine, mainly as 4,4'-thiodiphenol.

No acceptable reproductive studies have been submitted, however, field data that has been submitted for review indicate that there is very little, if any, impact on birds.

A data based on the frequency of egg-laying during a long-term study is a NOEL of 1 ppm, i.e. 0.12 mg/kg b.w. (US-EPA database).

#### Toxicity on terrestrial vertebrates

Temephos is of low acute toxicity with oral LD50 which are all higher than 2000 mg/kg bw. Males are slightly more sensitive than females. According to the US-EPA, a NOEL of 0.3 mg/kg/d could be selected for the long-term risk assessment.

#### Risk for drinking water

Species that frequent open water bodies are liable to ingest residues of active substances that reach water. The exposure concentration in this case is equal to PEC<sub>surface water</sub> (0.114 mg/L).

In some situations, some species may obtain all their daily water demand directly from puddles of spray liquid. Because the product is directly applied on the water surface, the exposure concentration is calculated from the applied dose, without dilution or drift.

The daily water intake is calculated allometrically as follows (Calder and Braun 1983). Thus, the daily dose of active substance is calculated as (PEC<sub>drinking water</sub> \* total water ingestion rate) / bodyweight.

The TERs (toxicity to exposure ratio) are calculated for the case of a 1200 g-bird and a 350 g-mammal for which long-term toxicity data are available.

Results of the calculation indicate that the amount of temephos that birds would be exposed to through normal water intake is much less than the potentially lethal concentration, and thus not of concern.

#### Risk for fish-eating birds

A value of log P<sub>ow</sub> higher than 3 may signify a bioaccumulation risk through the trophic chain. The log P<sub>ow</sub> of temephos is 4.91. Then the bioaccumulation risk is assessed through two food pathways by birds according the Guidance Document of the European Commission SANCO/4145.

Residues in fish may be estimated from PEC<sub>sw, t<sub>wa</sub></sub> at 21 days (77 µg/L) and daily doses are calculated for a 1000 g-bird and a 3000 g-mammal, the relevant species recommended by the guidance document (SANCO/4145/2000).

The calculated TERs are widely lower than the trigger value. Therefore, a potential risk for fish-eating birds and mammals is predicted.

However field data (Forgash, 1976; Pierce et al., 1990 Pierce et al., 1989 described in point 1.2.1) that have been submitted for review indicate that there is very little, if any, impact on birds. In fact the mitigation of this calculation includes that the dissipation in water of the active substance is rapid, the depuration of the active substance present in fish tissues is also fast and nearly complete, therefore chronic exposure is not likely to occur limiting the potential for secondary poisoning or effects to fish eating birds as well as mammals. (US-EPA).

Toxicity to bees

The acute contact LD<sub>50</sub> is 1.55 µg a.s./bee. Because the product is applied directly on water, we consider that the risk for bees is due to the contamination on the adjacent zone of the treated area by the drift of spraying. the risk towards bees may be assessed with the calculation of hazard quotients (HQ), based on the ratio of the maximum applied dose (in g a.s./ha) to the LD<sub>50</sub> (in µg a.s./bee). Results showed that there is no potential risk for bee populations.



# TEMEPHOS

## Summary of toxicological and human exposure information

DATE

**mars 2006**

Temephos is an organophosphate insecticide which is widely used for larval control.

Several formulations are currently used in Europe for this purpose:

Commercial name	Active substance	Active content	Formulation type	Authorised dose
Abate 500 E moustiques		500 g/L	EC	125 g/ha
Larviphos 500 EC		500 g/L	EC	125 g/ha
Abate 1% granule moustiques		500 g/L	EC	125 g/ha

As individual reports were not available to the reviewer, this evaluation is based on reviews previously conducted by different official bodies (references indicated in part I of the reference section). The references of individual studies, when found, are indicated in part II.

## 1 TOXICOLOGICAL INFORMATION:

Temephos is an organophosphate insecticide.

Its mechanism of toxicity is primarily by inhibition of the cholinesterase enzymes. This effect is commonly observed in both humans and animals when exposed repeatedly to temephos at sufficient levels.

Temephos was found to be of low acute toxicity with oral and dermal LD50 which are all more than 4000 mg/kg bw with the exception of one by oral (LD50 = 1300 mg/kg bw for rat female) dermal (LD50 = 1300 mg/kg bw for rabbit) or inhalation route (LC50 > 1.3 mg/L). Temephos is slightly irritating to eyes but not irritating to rabbits skin. The compound is not a dermal sensitizer.

It is readily absorbed and rapidly distributed among tissues and eliminated with a half-time of about 10 hours. By dermal application, the absorption of temephos on rat skin is estimated to be 38%.

By repeated exposure, temephos induces an inhibition of the cholinesterase activity. This effect was reported in both human volunteers and laboratory animals at similar levels. The duration of exposure is deemed to have an influence on the occurrence of this effect. When exposed for 44 days, rats exhibited an inhibition of the red blood cell cholinesterase activity at 10 mg/kg bw/d, whereas rats exhibited an inhibition of the same enzyme from 0.9 mg/kg bw/d when exposed for 90 days. Another significant effect reported in the 90-day rat study consisted of a decrease of the liver weight at a dose of 17.5 mg/kg bw/d, but this effect was low in magnitude and was not demonstrated in a 2-year study with rats exposed at a similar level.

In the only performed carcinogenic study, temephos was not found to induce carcinogenic effects in rats. Temephos is not deemed to induce mutagenic effects, but the studies are too few and available results not sufficiently described. The reproduction toxicity studies available did not exhibit any reprotoxic effects of temephos, but these studies are old and found to be not very reliable. In studies performed with hens, which suffered some limitations, temephos was not showed to induce delayed neurotoxicity.

## 2 OVERALL EVALUATION AND DERIVATION OF RELEVANT DERMAL PENETRATION, RELEVANT NOAEL FOR OPERATOR RISK ASSESMENT

A 38% dermal absorption has been determined in rat. However, no information is available on the tested formulation which is likely to be a solid formulation.

Considering the high level of penetration, the non-GLP character of the study and the fact that only a summary is available, a dermal penetration factor of 50%, based on an expert judgement, is proposed for the operator exposure evaluation.

Operators are likely to be exposed several days per week during several weeks, if not months in case of important outbreak of vector born disease.

The most sensitive adverse effect appears to be RBC ChE inhibition.

One of the most relevant studies is the 28-day human study by oral route (Laws et al. 1967). In this study, no clinical symptoms or RBC ChE inhibition have been reported at a daily dose of 0.9 mg/kg bw/day.

This study is consistent with the 44-day rat study in which the NOAEL is 1 mg/kg bw/day (Gaines et al., 1967) which tends to demonstrate that rat and human are similarly sensitive to ChE inhibition effects of temephos. However, exposure duration may be short compared to expected duration and in the 90-day repeated oral rat study, 0.9 mg/kg bw/day appears to be a LOAEL. In the repeated study (cf p 5), 0.3 mg/kg bw/day is the NOAEL.

NOAEL was fixed at 0.3 mg/kg bw/day.

### 3 SELECTION OF THE MOST RELEVANT ASSESMENT FACTORS (AF) FOR OPERATOR RISK ASSESSMENT

*Assessment factors applied for the calculation of refMOS for subchronic toxicity*

Assessment factors	Value
Interspecies	1 Several studies are available in Human. They all indicate that, as for most organophosphate insecticides, rat and human have similar sensitivity)
Intraspecies	5 (workers are considered as a more homogeneous population than the general population. Although there is no indication that some parts of the population are more sensitive to this type of insecticide, a factor of 10 can be used for bystander)
Exposure duration	2 (NOAEL clearly tends to decrease with the duration of the study and exposure of the operators may last more than 90 days)
Route-to-route extrapolation	1 (taken into account by dermal penetration)
Quality of the database	3 (non GLP studies and only summaries available)
refMOS	30

## 4 HUMAN EXPOSURE INFORMATION

### 1- Operator

The following conclusions can be drawn for well protected operator (MOS>30 are considered acceptable) and using models available for pesticide uses:

*MOS according to the scenario and the model used with the maximum precautions:*

Scenario	POEM	BBA	EURO POEM II	PHED
Granules applied with a Spoon	No model	No model	No model	No model
Pre-Pressure Hand Held	0.62	12.3	No model	No model
Air Assisted Spray	0.6	9.6	No model	78.34
Non Air assisted Spray	No model	No model	0.93	20.7
Aerial Application	No model	No model	No model	108.3

The use of risk mitigation measures for occupational handlers (i.e., maximum PPE and engineering controls) results in **MOS greater than the RefMOS of 30 with at least one model** for the following scenarios:

- Air Assisted Spray on quad bike or caterpillar without cab.
- Aerial application

The use of risk mitigation measures form occupational handlers (i.e., maximum PPE and engineering controls) results in **MOS less than the RefMOS of 30 whatever the model used** for the following scenarios:

- Pre-pressure hand held equipment with 5L tank.
- Non air assisted Spray monted on a 4WD pick-up.

The use of risk mitigation measures form occupational handlers (i.e., maximum PPE and engineering controls) could not be evaluated for the following scenario:

- Granules with a spoon.

### 2- Bystanders

For re-entry exposure, there is probably no exposure with granule and when the product is applied using pre-pressure hand held equipment with 5L tank.

Exposure when using non air assisted Spray mounted on a 4WD pick-up is considered as acceptable.

When using air Assisted Spray on quad bike or caterpillar, the models gives unacceptable exposure but this is mainly due to the use of a very conservative model.

Exposure by direct spray during aerial application is expected to be borderline, then exposure due to simple drift should be acceptable.

# TEMEPHOS

## Physical and chemical properties

## Environmental Risk Assessment

DATE

March 2006

## LIST OF ABBREVIATIONS

as	active substance
PEC	Predicted Environmental Concentration
TGD	Technical guidance document
TWA	Time Weighted Average

**1 MEMBER STATE**

FRANCE

**2 ACTIVE SUBSTANCE****2.1 COMMON NAME**

Temephos

**2.2 EC AND/OR CAS N°**

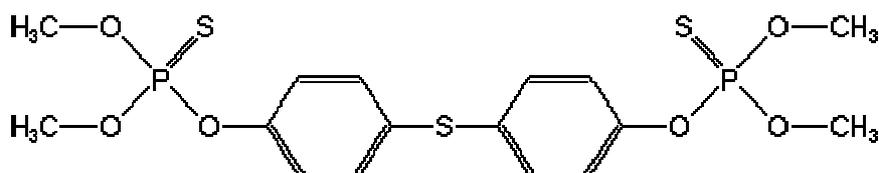
CAS Number: 3383-96-8

EC Number: 222-191-1

**2.3 MOLECULAR AND STRUCTURAL FORMULA (INCLUDING DETAILS ON ISOMERIC COMPOSITION) ; MOLECULAR MASS**Molecular formula:  $C_{16}H_{20}O_6P_2S_3$ 

Molecular mass: 466.5 g/mol

Structural formula:



---

**3 PHYSICAL CHEMICAL PROPERTIES IN ACCORDANCE WITH ANNEX IIA POINT III, TO DIRECTIVE 98/8/EC AS APPROPRIATE**

---

---

**3.1 MELTING POINT, BOILING POINT, RELATIVE DENSITY (ANNEX IIA POINT III. 3.1)**

---

According to Pesticide Manual, Thirteenth edition

Melting point: 30-30.5°C for pure active substance.

Boiling point: 120-125°C

Relative density: 1.33 at 20°C (BASF)

---

**3.2 VAPOUR PRESSURE (PA) (ANNEX IIA POINT III. 3.2)**

---

Vapour pressure:  $9.5 \cdot 10^{-6}$  Pa at 25°C (EPA)

Henry constant: 0.148 Pa.m<sup>3</sup>.mol<sup>-1</sup> EPA)

---

**3.3 APPEARANCE (PHYSICAL STATE, COLOUR) (ANNEX IIA POINT III. 3.3)**

---

Physical state:

Analytical grade: white (BASF) crystalline solid (EPA)

Technical grade: brown, viscous liquid (Gharda Chemicals Ltd)

Smell: Weak smell (Gharda Chemicals Ltd), Typical of mercaptan containing organic chemicals (BASF)

---

**3.4 ABSORPTION SPECTRA (UV/VIS, IR, NMR), AND A MASS SPECTRUM, MOLAR EXTINCTION AT RELEVANT WAVELENGTHS, WHERE RELEVANT (ANNEX IIA POINT III. 3.4)**

---

Intense mass spectral peaks: 466 m/z (100%), 125 m/z (51%), 93 m/z (38%) and 47 m/z (35%) (HSDB)

---

**3.5 SOLUBILITY IN WATER INCLUDING EFFECT OF PH (5 TO 9) AND TEMPERATURE SOLUBILITY, WHERE RELEVANT. (ANNEX IIA POINT III. 3.5)**

---

Solubility in water is very low:

Solubility in water = 0.03 mg/L at 25°C (Pesticide manual, thirteenth edition)

Solubility in water = 0.01 mg/L (EXTOXNET)

Temephos is soluble in common organic solvents, as diethyl ether, aromatic and chlorinated hydrocarbons. Solubility in hexane is 9.6 g/L (Pesticide manual, thirteenth edition)

---

**3.6 PARTITION COEFFICIENT N-OCTANOL/WATER, INCLUDING INFLUENCE OF PH (5 À 9) AND TEMPERATURE (ANNEX IIA POINT III. 3.6)**

---

Temephos partition coefficient,  $\log K_{ow} = \log P = 4.91$  (Pesticide manual, thirteenth edition)

---

**3.7 THERMAL STABILITY, IDENTITY OF RELEVANT BREAKDOWN PRODUCTS (ANNEX IIA POINT III. 3.7)**

---

Temephos is stable in normal conditions of pressure and temperature. By thermal decomposition oxides of phosphorus and sulphur may be formed. (Gharda Chemical ltd)

---

**3.8 FLAMMABILITY INCLUDING AUTO-FLAMMABILITY AND IDENTITY OF COMBUSTION PRODUCTS (ANNEX IIA POINT III. 3.8)**

---

Temephos may burn, but does not readily ignite (NEW JERSE hazardous Substance Fact Sheet)

By combustion, oxides of phosphorus and sulphur may be formed from temephos (Gharda Chemical ltd).

---

**3.9 FLASH-POINT (ANNEX IIA POINT III. 3.9)**

---

Flash point > 93°C (closed cup) BASF

---

**3.10 SURFACE TENSION (ANNEX IIA POINT III. 3.10)**

---

Nor required as solubility in water <1 mg/L

---

**3.11 EXPLOSIVE PROPERTIES (ANNEX IIA POINT III. 3.11)**

---

Temephos is not explosive (BASF)

---

**3.12 OXIDISING PROPERTIES (ANNEX IIA POINT III. 3.12)**

---

Temephos is not expected to have oxidising potential (BASF)

---

### 3.13 REACTIVITY TOWARDS CONTAINER MATERIAL (ANNEX IIA POINT III. 3.13)

---

No study available, however no adverse data are existing, demonstrating any specific reactivity towards container materials

## 4 ENVIRONMENTAL ENDPOINTS

---

Environmental endpoints presented in this section refer to directive 98/8. Annex IIA – Part VII Points 7.6 to 7.7.

### 4.1 DEGRADATION (ANNEX IIA – PART VII POINT 7.6)

---

#### 4.1.1 Biotic (Annex IIA – Part VII Point 7.6.1)

##### 4.1.1.1 Degradation in soil under Aerobic conditions

Information available on aerobic soil degradation is summed up in the table 4.1.1.1-1

*Table 4.1.1.1-1: aerobic soil degradation of temephos*

Temephos half life in soil	Information source
DT <sub>50</sub> in soil = <b>12 days</b>	Pesticide manual, thirteenth edition, 2003
Degradation rate in laboratory under aerobic conditions: <b>DT<sub>50</sub> &lt;14 days</b>	INRA - Agritox
Degradation rate in field conditions: <b>DT<sub>50</sub>=30 days</b>	INRA - Agritox
A half life of <b>30 days in soil</b> has been estimated, indicating a low to moderate persistence (Wauchope et al., 1992)	EXTOXNET

The range of values for degradation rate available in soil is 12 to 30 days demonstrating that temephos is dissipated rapidly in soil environment.

##### 4.1.1.2 Degradation in soil under Anaerobic conditions

No reliable data.

##### 4.1.1.3 Aquatic metabolism under anaerobic conditions

According to the EPA study *temephos applied at a concentration of 29.4 µg/g to anaerobic water/sediment system underwent degradation. The initial degradation/dissipation half-life was calculated as 12.2 days (first phase: 0 to 29*

days) and the terminal, longer degradation/dissipation half-life of **27.2 days** (30 to 121 days and beyond).

The mean total radioactivity recovered from the water/sediment systems ranged between 89 to 103 % of applied radioactivity.

In the aqueous phase, **parent Temephos** decreased from 59.9% at "day 0" (2 hours after application) to 7.9% by one week and below 1.6% after 90 days. In the sediment phase, Temephos decreased from 31.4% at "day 0" to 2.8% at day 90.

Formation of CO<sub>2</sub> was not detected at any time during the course of the study.

In the aqueous phase, **Temephos sulfoxide** increased from 1.3% at "day 0," then decreased to below 1.0% but reached 3.4% after 205 days. **Temephos sulfone** increased from 0.9% at "day 0," reached a maximum of 3.3% by 7-days and remained below 1% throughout the duration of the study. In the sediment phase, these two degradates were detected at below 1% of the applied radioactivity at all times.

The major identified degradates were Temephos sulfide phenol and Temephos sulfone phenol. None of these two degradates bear the organophosphate group. Therefore they do not have insecticide action.

In the aqueous phase, **Temephos sulfide phenol** increased steadily from non-detected at "day 0" to a maximum of 13.8% after 373-days. In the sediment phase, this degradate was not detected until 29-days at 1.8% maximum and declined to non-detected afterwards.

**Temephos sulfone phenol** increased steadily from 0.2% at "day 0" to 28.9% by day 61 and declined steadily to below 10% after 121 days. In the sediment phase, Temephos sulfone phenol was not detected until 7 days post-fortification (3.0%) and reached a maximum of 4.2% by day 15 but steadily declined afterwards to 2.2% and 1.8% by days 90 and 121, respectively.

There is a major uncertainty in the identity of three degradation products labelled as "Metabolite A," "Metabolite B," and "Metabolite C." These degradation products partitioned predominantly to the aqueous phase and not to the sediment, where none of them were detected at concentrations greater than 1.1 % of the applied at all times.

In the aqueous phase, the degradation product labelled as "**Metabolite A**" was detected first at 1.5 days after application at 8.9% but declined to 1.0% by day 121 and was not detected afterwards.

"**Metabolite B**" was first detected at 1.9 by day 15. It steadily increased to 37.2% by day 373.

"**Metabolite C**" was not detected at 0.9% until 29 days post-application. It increased steadily to a maximum of 13.4% by day 121. Beyond 121 days the concentration of this degradation product steadily declined to 5.4% by day 373.

The higher concentration of these unidentified degradates in the aqueous phase suggests that these degradates do not adsorb strongly to the sediment phase and that they may be associated with polar degradates. Polar degradates may form from oxidation of the sulfide linkage with or without oxidation the sulfur present in

*the organo-thiophosphate groups. Products containing the organothiophosphate groups can form by cleavage from parent Temephos with or without replacement their sulfur by oxygen and with or without oxidation of the sulfide linkage (i.e., formation of a sulfoxide or a sulfone).*

Details on the anaerobic water sediment study are summed up in the following table:

Table 4.1.1.3-1: details on anaerobic water sediment study from EPA

Temephos DT <sub>50</sub> (Total system, biphasic degradation)	12.2 days (initial phase) and 27.2 days (terminal phase)
Incubation time	373 days
Recoveries	88.6% to 103.2%
Aqueous phase	Aqueous phase: Max. 37.2% (Day 29) Org. phase: Excluding 62.8% (day 0), 23.9- 69.2% (Day 7-373)
Sediment	Org. extract: 32.8-53.4% (Day 0-7) declined to less than 10% (Day 121) Non extractable: Max. 3.9% (Day 373)
Volatile org. compounds and CO <sub>2</sub>	No
Temephos and metabolites in water (%AR)	Temephos: 59.9% (Day 0), 7.9-1.1 (Days 7-373) Temephos sulphide phenol: 7-13.8% (Day 205-373) Temephos. sulfone phenol: 8.8-28.9% (Day 7-61), 15.6-8.7% (Day 90-160), 5% (Day 373) Temephos sulfone <5% Temephos sulfoxide: < 5%, Unknown A: 8.9% (Day 15), 7.5% (Day 29) Unknown B: 14.5-37.3% (Day 61-373) Unknown C: 7.3-13.4% (Day 61- 121), 8.1-5.4% (Day 160-373)
Temephos and metabolites in sediment (%AR)	Temephos: 31.4-47.9% (Day 0-7), 37.8-1.5 (Days 15-121) Metabolites: < 5%

### Conclusion:

Degradation half life of temephos in anaerobic aquatic total system has been evaluated to 12.2 days in the initial phase and 27.2 days in the terminal phase. Temephos in the water phase decreased from 59.9% at day 0 to 7.9% AR at day 7, and reached concentration up to 47.9 % in the sediment at day 7.

There is no major metabolite (>10%) in the sediment phase, whereas in the **aqueous phase 4 major metabolites** were detected (2 identified and 2 none identified).

The major identified degradates were temephos sulphide phenol and temephos sulfone phenol. Temephos sulfone phenol is rapidly formed (8.8% after 7 days), while temephos sulphide phenol is a late metabolite. None of these two degradates bear the organophosphate group; therefore they do not have insecticide action.

Two others major metabolites detected but not identified, named unknown B and C, reached values up to 37.3% AR at day 61 for metabolite unknown B and 13.4% AR at day 121 for metabolite unknown C.

#### 4.1.1.4 Aquatic metabolism under aerobic conditions

According to the EPA study, *temephos* applied at a concentration of 31.7µg/g to aerobic water/sediment followed first-order kinetics, with a half-life of **17.2 days**.

Mean total radioactivity ranged from 91 to 101% of the applied radioactivity.

Volatile organic compounds and <sup>14</sup>C<sub>2</sub> reached 0.2% and 4.6%, respectively, by day 30.

In the aqueous phase, **Temephos** decreased from 33.5% of the applied at day 0 to 0.3% at 30 days. In contrast, *Temephos* in the sediment phase increased from 51.9% at day 0 to a maximum of 72.9% at day 2, decreasing to 21.7% by day 30. Decrease of *Temephos* in the aqueous phase parallels partition to the sediment phase and increase in degradation.

*Temephos* sulfoxide, *Temephos* sulfide phenol, and *Temephos* sulfone phenol were identified in both the water and sediment phases.

**Temephos sulfoxide** was found at a maximum of 5.4% in the sediment (day 4) and 3.6% in the water by day 2.

The maximum **Temephos sulfone phenol** detected in the water phase was 6.3% (day 14) and 5.4% in the sediment (day 1).

**Temephos sulfide phenol** in the sediment increased steadily, reaching a maximum 4.8% at day 30 but remained at 1.7% or below in the water phase at all sampling times shorter than 30 days.

An unknown metabolite ("**Unknown 1**") in the sediment reached a maximum of 13.2% on day 14. Uncharacterized degradates in the aqueous phase increased steadily to 17% by day 30 and are presumed to be highly polar, weakly adsorbing products.

Details on the aerobic water sediment study are summed up in the following table:

Table 4.1.1.4-1: details on aerobic water sediment study from EPA

DT50 (Total system)	17.2 days (1st order kinetics for aqueous phase + org. extr. of sed.)
Incubation time	30 days
Recoveries	101.1% to 80.7% (Days 0-30)
Aqueous phase	Aqueous phase: Max. 17.4% (Day 30); Org. phase: 38-9.8% (Days 0-30)
Sediment	Org. Extract: 63.1-79.4% (Days 0-2) and 77.8-42.2% (Days 4-30); Non extractable: Max. 6.5% (Day 30)
Volatile org. compounds and CO <sub>2</sub>	Max 0.2% and 4.6% (Day 30)

Temephos and metabolites in water (% AR)	<ul style="list-style-type: none"><li>- Temephos: 33.5-0.3% (Days 0-30)</li><li>- Temephos sulfoxide: &lt; 5%</li><li>- Temephos sulphide phenol: &lt; 5%</li><li>- Temephos sulfone phenol: 5.2-6.3% (Days 4-14)</li><li>- Unknown 1: &lt; 5%</li><li>- Unknown 2 (org. extractable): &lt; 5%</li></ul>
Temephos and metabolites in sediment (%AR)	<ul style="list-style-type: none"><li>- Temephos: 51.9- 72.9% (Days 0-2), 67-21.7% (Days 4-30)</li><li>- Temephos sulfoxide: 5.4% at Day 4</li><li>- Temephos sulphide phenol: &lt; 5%</li><li>- Temephos sulfone phenol: 5.4% at Day 1</li><li>- Unknown 1: 6.4-13.4% (Days 8-14), 12.9-9.8% (Days 21-30)</li></ul>

### Conclusion:

Degradation half life of temephos in aerobic water sediment total system has been evaluated to 17.2 days.

In water, the major fraction is the parent and there is no major metabolite (>10% AR).

In sediment, the major fraction is the parent and there is no major metabolite except one unidentified metabolite detected at maximum level of 13.4% on day 14.

#### 4.1.1.5 Ready biodegradability (Annex IIA – Part VII Point 7.6.1.1)

Temephos is not classified as a ready biodegradable substance.

#### 4.1.1.6 Inherent biodegradability, where appropriate (Annex IIA – Part VII Point 7.6.1.2)

No data available

### 4.1.2 **Abiotic (Annex IIA – Part VII Points 7.6.2)**

#### 4.1.2.1 Hydrolysis as a function of pH and identification of breakdown products (Annex IIA – Part VII Point 7.6.2.1)

According to the abiotic hydrolysis study (EPA), *abiotic hydrolysis is not a major degradative pathway for temephos. But there is evidence that there is a pH-related trend in the reported, extrapolated half-lives and pseudo first-order rate constants, with the half-lives decreasing with increasing pH. However, there is a great uncertainty in these calculated half-lives because they are extrapolated well beyond the 30-days duration of the study.*

The only major degradate identified was the oxidation product temephos sulfoxide at less than 10% and only at pH 9.

pH 5 at 25°C DT50=1030 days  
k= 0.00067 days<sup>-1</sup>

pH 7 at 25°C DT50=460 days  
k= 0.0015 days<sup>-1</sup>

pH 9 at 25°C DT50=86 days  
k= 0.0081 days<sup>-1</sup>

Those data are consistent with values published in INRA Agritox database.

#### 4.1.2.2 Photo-transformation in water including identity of the products of transformation (Annex IIA – Part VII Point 7.6.2.2)

According to the study on direct photolysis in water (EPA), direct photolysis is an important degradation route for Temephos in water.

The reported calculated half-life of <sup>14</sup>C-Temephos under 24 hours of continuous irradiation (xenon arc lamp) is **15 days** (k = 4.3 x 10<sup>-2</sup> days), for 30 µg/L (ppb) of Temephos in unbuffered solutions at pH 6.5 to 7.0 and at 25°C.

The major degradate identified was **temephos sulfoxide at 11%** maximum from 3-days after beginning of exposure and throughout the 14-days duration of the study, in contrast to less than 4% in dark control solutions.

## 4.2 ADSORPTION/DESORPTION SCREENING TEST (ANNEX IIA – PART VII POINT 7.7)

According to Pesticide manual, thirteenth edition, adsorption of temephos on soil is characterised by:

K<sub>d</sub> = 73 in loamy sand

K<sub>d</sub> = 244 in silt loam

K<sub>d</sub> = 541 in loam

K<sub>d</sub> = 130 in sandy loam

Adsorption in organic mater is very high

Values reported in the document by EPA are the same than the values mentioned in the pesticide manual 2003. The K<sub>oc</sub> mean value we can therefore calculate is **22 770**.

Table 4.2-1: Adsorption values from EPA Study

	Loamy sand	Sandy loam	Silt loam	Loam
pH	6.0	6.4	6.9	7.0
K <sub>ads,F</sub>	73	130	244	541
1/n	0.58	0.62	0.72	0.78
K <sub>oc</sub>	18 250	16 250	31 800	22 800

No targeted mobility data is available on the major degradation products of temephos but data from the aquatic metabolism studies suggest that oxidized, polar products of temephos may be weakly adsorbed to sediment as these degradates tend to partition into the water phase.

Additionally, BASF reported 2 more data for loamy sand and clay soils. The calculated  $K_{oc}$  mean from those data is 22 800, close to the average calculated above from EPA study.

Table 4.2-2: adsorption values from BASF

	Loamy sand	Clay
$K_{ads,F}$	115	1 390
1/n	0.695	0.869
$K_{oc}$	8 241	37 356

## 5 ENVIRONMENTAL FATE ASSESMENT

All assessments are made for an application rate of 125g as/ha.

### 5.1 PRELIMINARY APPROACH

As a first approach, a regional Predicted Environmental Concentration (PEC) can be calculated with the Mackay box model-level III (Fugacity based Environmental Equilibrium Partitioning Model, Mackay, 2001).

A Level III describes a situation where chemical is continuously discharged at a constant rate and achieves a steady state condition in which input and output rates are equal. The loss processes are degrading reactions and advection. Equilibrium between media is not assumed and, in general, each medium is at a different fugacity. A mass balance applies not only to the system as a whole, but to each compartment. Rates of intermedia transport are calculated using default values which contain information on mass transfer coefficients, areas, deposition and resuspension rates, diffusion rates, and soil runoff rates.

The Mackay model Level III had been activated with EPIWIN interface (v3.12). Most of the parameters used in the model are default values from EPIWIN software except for physical and chemical properties and half lives values.

Table 5.1-1: Non default values involved in Mackay level III calculation with EPIWIN

Physical and chemical properties	
Vapour pressure (mm Hg)	7.17 10 <sup>-8</sup>
Melting point (°C)	30.25
Boiling point (°C)	122.5
Henry law constant 'atm m <sup>3</sup> mole	1.17 10 <sup>-6</sup>
Log Low	4.91
Water solubility (mg/L)	0.03
Degradation rates (hours)	
Air	0.946
Water	413
Soil	720
Sediment	24000
Adsorption	
Koc	8241

The resulting partitioning between environmental compartments is presented in the table 5.1-2.

Table 5.1-2: of level III fugacity model :	Emission (kg/h)	Mass amount (%)
Air	1000	0.09
Water	1000	21.2
Soil	1000	<b>61.6</b>
Sediment	0	17.1

Conclusion: according to the Mackay fugacity model III, at a regional scale, temephos is likely to reach maximal amount in soil.

## 5.2 ROUTE AND RATE IN AIR

The Focus Air group proposed trigger values of vapour pressure to establish whether a substance is likely to reach the air or not. It is considered that a vapour pressure below 10<sup>-4</sup> Pa at 20°C, do not allow significant volatilisation of the substance. According to the low vapour pressure reported, 7.17 10<sup>-6</sup> Pa (20°C) temephos volatilisation is not significant.

The Atmospheric Oxidation Program for Microsoft Windows (QSAR) estimates the rate constant for the atmospheric, gas-phase reaction between photochemically produced hydroxyl radicals and organic chemicals. It also estimates the rate constant for the gas-phase reaction between ozone and olefinic/acetylenic compounds. The rate constants estimated by the program are then used to calculate atmospheric half-lives for organic compounds based upon average atmospheric concentrations of hydroxyl radicals and ozone.

AOPwin v1.91 software calculation provides the following estimations:

K<sub>O<sub>3</sub></sub>: no ozone reaction

K<sub>OH</sub> rate = 135.61e<sup>-12</sup> cm<sup>3</sup>/molc/sec

**DT<sub>50</sub> in air = 0.948 hours**

Even if light volatilisation occurs, degradation rate in air is so important that PEC<sub>air</sub> is negligible.

---

## 5.3 ROUTE AND RATE IN WATER

---

### 5.3.1 Fate in surface water

The abiotic hydrolysis study from EPA (§ 4.1.2.1) indicates a stability of temephos with a  $DT_{50}$  of 460 days at pH7. There is no major metabolite detected.

According to all information available and reported above (§4), we can assess that the main degradation pathways for temephos in water are direct photolysis with a half life of 15 days and biodegradation in aerobic water system with a half life of 17.2 days.

From direct photolysis, the major degradate identified is temephos sulfoxide with a maximum level of 11% of applied radioactivity (AR) between day 3 and 14 of incubation. In the aerobic water system, temephos sulfoxide is not a major metabolite (< 5.4%) but other unknown metabolite is detected in sediment at a level over 10% AR, with a maximum of 13.4%.

Under anaerobic conditions in the water system, 4 metabolites were over passing the threshold of 10% AR during incubation. Two of them were identified as temephos sulphide phenol and temephos sulfone phenol with respective maximum level during incubation of 13.8% and 28.9%. The two others were not identified, called unknown B and C they respectively reached maximum level of 37.3% and 13.4% respectively.

Insecticide Risk assessment for surface water is supposed to be done according to the Technical guidance document (TGD) for biocide. As no Environmental Scenario Document (ESD) was available for insecticide use like temephos therefore EUSES model has not been used and a simplified emission scenario had been considered.

With this simplified emission scenario and from the half lives mentioned above, a predicted environmental concentration (PEC) in surface water can be evaluated according to the document of environmental risk assessment published by toxicity commission, Revision 6.5 of October 2004.

Calculations take into account the maximal application rate for temephos of 125g as/ha and the maximal number of 6 applications with an interval between applications of 10 days; Assuming that 100% of the substance applied reach the water system, PEC in surface water have been calculated.

A stagnant water sediment system of 1 hectare, 30cm depth of water is considered.

$$PEC_{1 \text{ application}} (\mu\text{g/L}) = \text{application dose (as./L)} * 1/3$$

$$PEC_{\text{after last application}} (\mu\text{g/L}) = PEC_{1 \text{ application}} + PEC_{\text{residual previous applications}}$$

From the  $PEC_{1 \text{ application}}$ , an average concentration (TWA) is also calculated on a duration including the whole duration of applications, plus 42 days after the last application. This way, the  $PEC_{\text{twa}}$  takes into account:

- The degradation of the substance
- The number of applications
- The interval between applications

The  $PEC_{\text{twa}}$  calculation is made according to the following equation:

$$PEC_{twa} = PEC * (DT_{50}/d * \ln 2) * (1 - e^{-(d * \ln 2 / DT_{50})})$$

Basically, when a dissipation in water phase is occurring the area under the curve is calculated and divided by the number of days and therefore it corresponds to a constant exposure over the timing considered.

The initial PEC in surface water is estimated to be 41.67µg/L after the first application and 114.43µg/L after 6 applications of temephos.

Table 5.3.1-1: parameters involved in the calculation of  $PEC_{surface\ water}$

DT <sub>50 water</sub> :	17.2	days
k :	0.040	days <sup>-1</sup>
Application dose :	125	g as/ha
Effective dose	100	%
Number of applications :	6	-
Interval between applications :	10	days
Water depth :	30	cm

Table 5.3.1-2: results of  $PEC_{surface\ water}$  calculation

PEC <sub>water, 1 application</sub> :	<b>41.667</b>	µg/L
PEC <sub>water, last application</sub> :	<b>114.429</b>	µg/L

PEC <sub>surface water,</sub>	Days after last application	Actual Concentration (µg/L)	Time weighted average Concentration (µg/L)
Initial	0	114.429	114.429
Short term	1	109.909	112.154
	2	105.568	109.939
	4	97.393	105.682
Long term	7	86.302	99.705
	14	65.089	87.451
	21	49.091	77.206
	28	37.024	68.598
	42	21.060	55.164

### 5.3.2 Fate in ground water

Temephos application process may entail a drift of temephos on soil. The application mode supposed to generate the maximal drift is the aerial spraying. This scenario has been selected as the drift worst case. According to AgDrift model (SDTF, 1999), a drift percentage of 33.2% is associated to the aerial application.

To assess the leaching potential of Temephos, simulations were conducted using FOCUSPELMO 3.3.2 software model and following the FOCUS working group recommendations. Standard FOCUS groundwater scenarios were used and aimed to represent a mean case situation. Objective is not to represent specific climatic/soil conditions for Member States, but to provide the prediction of the leaching potential of active substance under widely differing conditions present in Europe, where acceptable scenarios (in terms of Regulatory acceptance) may exist for the proposed uses. If the prediction of the presence of an active ingredient and/or its metabolites in groundwaters is leading to concern, national scenarios should be tested towards regulatory cut-off criteria. The software and the scenarios properties are described in the FOCUS document (FOCUS, 2000). Location of the scenarios and the main properties are shown in the Table below. The input data and the results are indicated below.

Figure 5.3.2-1 Location of the 9 groundwater scenarios (from FOCUS, 200<sup>4</sup>)

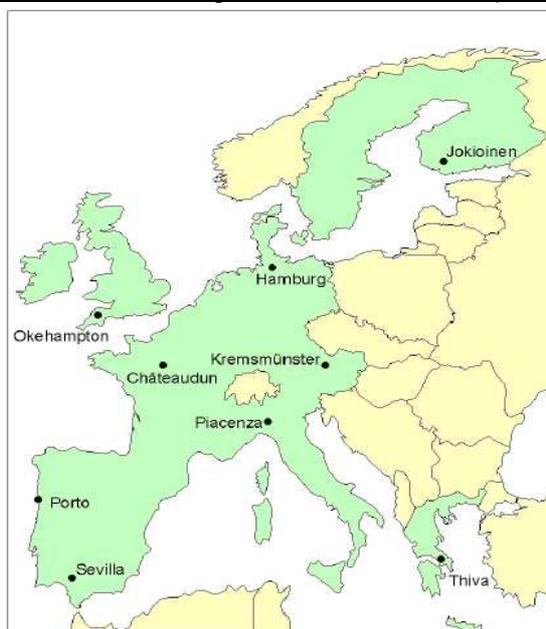


Table 5.3.2-1: Properties of the 9 groundwater scenarios

Location	Mean Annual Temp. (°C)	Annual Rainfall (mm)	Topsoil	Org. matter (%)
Châteaudun	11.3	648 + I*	Silty clay loam	2.4
Hamburg	9.0	786	Sandy loam	2.6
Jokioinen	4.1	638	Loamy sand	7.0
Kremsmünster	8.6	900	loam/silt loam	3.6
Okehampton	10.2	1038	loam	3.8
Piacenza	13.2	857 + I*	Loam	1.7
Porto	14.8	1150	loam	6.6
Sevilla	17.9	493+ I*	Silt loam	1.6
Thiva	16.2	500 + I*	loam	1.3

\* I: Irrigation

<sup>4</sup> SANCO/321/2000 rev.2: FOCUS groundwater scenarios in the EU review of active substances.

The  $PEC_{gw}$  were calculated with all scenarios.

Table 5.3.2-2: Input parameters for  $PEC_{gw}$  simulations

Parameters	Temephos
DT <sub>50</sub> (days) soil max	Field : 30
Koc (K <sub>oc</sub> ) min	8241
Molecular mass (g/mol)	466.5
Vapour pressure (Pa)	9.5 10 <sup>-6</sup>
Water solubility (mg/L)	0.03
Effective applied dose (g as/ha)	125
Scenarios	All
Crop	Grass

$PEC_{gw}$  is expressed as 80<sup>th</sup> percentile value of the concentrations of compound considered in a water body standing at 1 m depth, after leaching through different soil layers.

Therefore predicted concentrations in soil have been evaluated taking into account a 33.2% drift as the worst case. Adsorption on soil is very high with a lower  $K_{oc}$  value of 8241 (worst case from BASF, see § 4.2).

An evaluation of PEC in ground water with FocusPELMO 3.3.2 software provided the following results:

Table 5.3.2-3: results of  $PEC_{gw}$  ( $\mu\text{g/L}$ ) with FOCUSPELMO 3.3.2

Location	Temephos $PEC_{gw}$ ( $\mu\text{g/L}$ )
Châteaudun	<0.001
Hambourg	<0.001
Jokioinen	<0.001
Kremsmunster	<0.001
Okehampton	<0.001
Piacenza	<0.001
Porto	<0.001
Sevilla	<0.001
Thiva	<0.001

Therefore percolation of temephos in soil is not significant.

## 5.4 ROUTE AND RATE IN SEDIMENT

### 5.4.1 Calculation method

Considering the same water stagnant system (100\*100\*0.3m<sup>3</sup>) with a sediment layer of 5 cm depth and 0.8 g/cm<sup>3</sup> density, PEC in sediment have been evaluated according to the recommendation of the toxicology commission (revision 6-5 of October 2004):

$$PEC_{sed}(t), (mg / kg) = \frac{PEC_{ini,sw} * V_{sw} * P_{sed}(t)}{V_{sed} * bd_{sed} * 100}$$

With :

PEC<sub>ini,sw</sub>: PEC initial in surface water

V<sub>sw</sub> : water volume (300L)

P<sub>sed</sub>(t): % of active substance in sediment at time t

V<sub>sed</sub>: sediment volume (5cm depth: 5000cm<sup>3</sup>)

B<sub>dsed</sub>: sediment density: 0.8g/cm<sup>3</sup>

### 5.4.2 Parameters involved

The parameters involved in the PEC sediment calculation are the following:

Table 5.4.2-1: Parameters involved in PEC<sub>sed</sub> calculation

Substance	Temephos	
PEC <sub>water</sub> , 1 application :	41.667	µg/L
% max in sediment (EPA study):	79.4	%
DT <sub>50</sub> in sediment (default value)	1000	days

### 5.4.3 Results

Taking into account, a default value for the degradation rate in sediment of 1000 days, the PEC<sub>sed</sub> have been evaluated. PEC<sub>sed</sub> is estimated to be 1488.75µg/kg of dry sediment after the last application and 1467 µg/kg after 21 days.

Table 5.4.3-1: results of  $PEC_{sed}$  calculation

$PEC_{sed, initial}$ :	1488.75	$\mu\text{g}/\text{kg}$ of dry sediment	
PECsed	Days after last application	Concentration ( $\mu\text{g}/\text{kg}$ dry sediment)	Average Concentration ( $\mu\text{g}/\text{kg}$ dry sediment)
Initial	0	1488.75	1488.75
Short-term	1	1487.72	1488.23
	2	1486.69	1487.71
	4	1484.63	1486.69
Long-term	7	1481.54	1485.14
	14	1474.37	1481.55
	21	1467.23	1477.96
	28	1460.13	1474.39
	42	1446.03	1467.28

## 5.5 ROUTE AND RATE IN SOIL

### 5.5.1 Calculation method for local PEC soil

Predicted Concentrations have been assessed according to the Technical Guidance Document (TGD). Therefore 3  $PEC_{soil}$  have been calculated for 3 different endpoints:

- Terrestrial ecosystem
- Crops for human consumption
- Grass for cattle

Instantaneous concentration ( $PEC_{soil,t}$ ) and time weighted average concentration ( $PEC_{soil,twa}$ ) were determined for each endpoint. Considering a first-order degradation kinetics,  $PEC_{soil,t}$  and  $PEC_{soil,twa}$  are determined following the formula :

$$PEC_{soil,t} = PEC_{ini,n} e^{(-kt)},$$

and to obtain time the average concentrations ( $PEC_{twa,soil}$ ) over the time the area under the curve is calculated and divided by the number of days :

$$PEC_{twa,soil} = PEC_{ini,n} \cdot \frac{DT50}{t_i \cdot \ln(2)} (1 - e^{(-t_i \cdot \ln(2)/DT50)})$$

Where:

$PEC_{soil,i}$  = initial predicted environmental concentration (mg/kg)

$DT_{50}$  = half-life of dissipation in soil (days)

$t_i$  = considered time period for averaging (days)

In case of multiple applications, the PEC after last application is calculated following the formula:

$$PEC_{ini,n} = \frac{PEC_{ini,1}(1 - e^{-nki})}{(1 - e^{-ki})}$$

Where:

$PEC_{ini,n}$  is the initial PEC after n applications (mg/kg soil),

$PEC_{ini,1}$  the initial PEC after the first application (mg/kg soil),

n the number of applications spaced by i days,

k the rate constant of the degradation of the active substance ( $d^{-1}$ ).

### 5.5.2 Parameters involved

Temephos application process may entail a drift of temephos on soil. The application mode supposed to generate the maximal drift is the aerial spraying. This scenario has been selected as the drift worst case. According to AgDrift model (SDTF, 1999), a drift percentage of 33.2% is associated to the aerial application.

From documents available, the maximal value reported for field degradation rate in soil is 30 days (according to INRA-Agritox database, see § 4.1.1.1).

Considering the worst case of a maximal  $DT_{50}$ , and a maximal drift of 33.2% PECs soil have been evaluated. The results are presented in § 5.4.3.

Table 5.5.2-1: Parameters involved in temephos  $PEC_{soil}$  calculation

Parameter	Value	Units
$DT_{50}$ in soil:	30	days
k:	0.023	days <sup>-1</sup>
Application rate:	125	g/ha
Drift (worst case)	33.2	%
Effective application rate:	41.5	g/ha
Applications number:	6	-
Time between applications:	10	days
Soil density (wet soil)	1.5	g/cm <sup>3</sup>

Table 5.5.2-2 Soil depth and averaging time for the 3  $PEC_{soil}$  calculated

	Soil depth (m)	Averaging time for $PEC_{twa}$ (days)	Endpoint
$PEC_{local}$ , soil	0.20	30	Terrestrial ecosystem
$PEC_{local}$ , agr, soil	0.20	180	Crops for human consumption
$PEC_{local}$ , grassland	0.10	180	Grass for cattle

### 5.5.3 Results

Table 5.5.3-1: results for the 3 PEC<sub>local soil</sub>

PEC (mg/kg of wet soil)	PEC initial	PEC <sub>soil</sub> after last application	PEC <sub>twa</sub>
PEC <sub>local, soil</sub>	0.014	0.050	0.036
PEC <sub>local, agr, soil</sub>	0.014	0.050	0.012
PEC <sub>local, grassland</sub>	0.028	0.101	0.024

Table 5.5.3-2: detailed results of PEC<sub>local soil</sub> calculation with a soil depth of 0.20m

PEC <sub>soil, 1 application, ini</sub>	<b>0.014</b>	mg/kg
PEC <sub>soil, last application, ini</sub>	<b>0.050</b>	mg/kg

PEC	Days after last application	Actual Concentration (mg/kg wet soil)	Average concentration (mg/kg wet soil)
Initial	0	0.050	0.050
Short-term	1	0.049	0.050
	2	0.048	0.049
	4	0.046	0.048
Long-term	7	0.043	0.046
	21	0.031	0.040
	<b>30</b>	<b>0.025</b>	<b>0.036</b>
	100	0.005	0.020
	<b>180</b>	<b>0.001</b>	<b>0.012</b>

Table 5.5.3-3: detailed results of PEC<sub>local soil</sub> calculation with a soil depth of 0.10m

PEC <sub>soil, 1 application, ini:</sub>	<b>0.028</b>	mg/kg
PEC <sub>soil, last application, ini:</sub>	<b>0.101</b>	mg/kg

PEC	Days	Actual Concentration (mg/kg wet soil)	Average concentration (mg/kg wet soil)
Initial	0	0.101	0.101
Short-term	1	0.098	0.099
	2	0.096	0.098
	4	0.092	0.096
Long-term	7	0.086	0.093
	21	0.062	0.080
	30	0.050	0.073
	100	0.010	0.039
	<b>180</b>	<b>0.002</b>	<b>0.024</b>

## CONCLUSION

Temephos is dissipated rapidly in soil half life between 12 days (laboratory data, Pesticide Manual) and 30 days (field data, INRA).

According to EPA study, in water-sediment system, half life of temephos has been evaluated to be of 27.2 days as a maximal value (anaerobic system). In water phase, the major identified metabolites were temephos sulphide phenol and temephos sulfone phenol, none of these bear the organophosphate group and have insecticide action. Two others none identified metabolites over passed the threshold of 10% AR in the water phase. In the sediment phase a single major and non identified metabolite was detected at a level over 10% AR.

In water the main degradation pathway is photolysis with a half life of 15 days. The only major metabolite was temephos sulfoxide with a maximum occurrence of 11% AR.

At the reverse hydrolysis is not a major degradation pathway with a half life of 460 days at pH7. Hydrolysis increased with pH and no major metabolite was formed (EPA study)

Adsorption of temephos on soil is very high with Koc estimation from 8 421 to 31 800. Consistently with this important adsorption on soil and according to the regional approach with Mackay Model III, the major amount of temephos is likely to be encountered in soil (61% of total amount). Calculation of PEC ground water with FocusPELMO 3.3.2 showed that percolation of temephos is not significant. The threshold of 0.1µg/L is never reached.

Instantaneous and average Predicted Environmental Concentrations had been calculated, taking into account 6 applications rate of 125 g as/ha of temephos, with a time interval between 2 applications of 10 days. The results are the following:

	Initial PEC	PEC after last application	Time weighted average PEC	Units
Surface Water	42	114	55 (42 days)	µg/L
Sediment	-	1489	1467(42 days)	µg/kg dry sediment
Soil	0.014	0.050	0.036 (30 days)	mg/kg wet soil
Soil, agriculture	0.014	0.050	0.012 (180 days)	mg/kg wet soil
Soil, grassland	0.028	0.101	0.024 (180 days)	mg/kg wet soil

---

## REFERENCES

BASF. Temephos. List of endpoints following Biocidal Products Directive 98/8/EEC. 10 February 2006.

EID Méditerranée. Compléments d'informations pour l'AFSSET en vue de la demande d'usage essentiel pour le temephos. 17/02/2006.

EPA Memorandum HED Chapter for the Reregistration Eligibility Decision (RED) Document. Chemical No. 059001 Case No. 818974 Barcode D240786. From Goodyear J.J. Biologist. Evans W. Biologist., Parker R. Senior environmental engineer, Terms S.C. Chemist. Environmental fate and Effects Division (7507C).

EXTOXNET PIP – TEMEPHOS\_260106: <http://extoxnet.orst.edu/pips/temephos.htm>

Gharda Chemical Ltd. Fiche de sécurité du Temephos technique. Dernière révision : 15.05.2002.

Hazardous substance data bank (HSDB). Database of the National Library of Medicine's TOXNET system (<http://toxnet.nlm.nih.gov>) on January 26, 2006.

INRA. Agritox Database : <http://www.inra.fr/agritox/>

Mackay, D.2001. "Multimedia Environmental Models: The Fugacity Approach - Second Edition", Lewis Publishers, Boca Raton, pp.1-261.

New Jersey department of health and senior services. April 1986. Revision May 2000. Temephos Hazardous Substance Fact Sheet.  
<http://www.state.nj.us/health/eoh/rtkweb/1780.pdf>

SSM. Versailles. Evaluation du risque environnemental des produits phytopharmaceutiques. Révision 6-5, octobre 2004. Commission d'étude de la toxicité des produits antiparasitaires à usage agricole et des produits assimilés des matières fertilisantes et des supports de culture.

Technical guidance document in support of commission directive 93/67/EEC on risk assessment for new notified substance and commission regulation (EC) N° 1488/94 on risk assessment for existing substance (TGD). Part II. Chapter 3. European Commission. EUR 20418 EN/2.

*The pesticide Manual*. C D S Tomlin (editor). Thirteenth Edition. 2003.

Wauchope, R. D., Buttler, T. M., Hornsby A. G., Augustijn-Beckers, P. W. M. and Burt, J. P. SCS/ARS/CES Pesticide properties database for environmental decisionmaking. Rev. Environ. Contam. Toxicol. 123: 1-157, 1992.5-20.

# TEMEPHOS

## Ecotoxicological risk assessment

DATE

**Mars 2006**

## 1 ECOTOXICOLOGICAL STUDIES

Data on the toxicity of temephos to aquatic or terrestrial organisms are presented in the following paragraphs. These data are issued from the assessment of temephos by the US-Environmental Protection Agency (EPA), from literature data, from private companies as well as from data pertaining to website INRA/Agritox (Regulatory Body in France).

Data were provided from studies conducted with the active ingredient or with various formulations reported in the following table.

Formulation name	Type	Concentration
-	EC	43%
Abate	EC	90%
Abate 4-E	EC	46.1%
Abate 4EC	EC	45.1%
5-CG	CG	5.7%
Abate 2CG	CG	2%

Risk assessments for aquatic and terrestrial organisms are based on these available data.

### 1.1 EFFECTS ON AQUATIC ORGANISMS - TOXICITY EXPOSURE RATIO VALUES

#### Toxicity of temephos to aquatic organisms

The toxicity of temephos has been assessed towards various aquatic species.

Temephos shows a wide range of toxicity to aquatic organisms, depending on the formulation. Generally the technical grade active ingredient (TGAI) is moderately toxic and the emulsifiable concentrate (EC) formulations are highly to very highly toxic. The toxicities of the both formulations (EC and CG) are of the same order of magnitude. The formulation EC is slightly more toxic on *Daphnia magna* and on the pink shrimp.

The most sensitive species is the invertebrate species and *Daphnia magna* is extremely sensitive. Freshwater aquatic invertebrates such as amphipods are highly susceptible to temephos as are some marine invertebrates. Because the compound is an insecticide and is used effectively to control the aquatic larval stages of mosquitos, black flies and midges, the toxic nature to these organisms is not surprising.

The formulation EC is highly toxic to the saltwater species, the pink shrimp (LD<sub>50</sub> 0.005 mg/l) and the Eastern oyster (LD<sub>50</sub> 0.014 mg/L). The compound is nearly non-toxic to the bull frog with an LD<sub>50</sub> of greater than 2000 mg/kg (Extonet PIP).

The most sensitive species of fish is the rainbow trout with a LD<sub>50</sub> ranging from 0.16 (formulation EC) to 3.49 mg/kg (TGAI). Other LD<sub>50</sub> values for temephos are close to or higher than 10 mg/L for the TGAI. Other LD<sub>50</sub> values for formulation EC ranged from 1 to and 7 mg/L.

Temephos has the potential to accumulate in aquatic organisms ( $\log P > 4$ ). The bluegill sunfish accumulated 2,300 times the concentration present in the water. However, the exposure time under conditions of uses ie in ponds or moving waters is supposed to be very low due to the very high adsorption onto colloids (Koc of ca. 22 000), and the  $DT_{50}$  in the water phase is expected therefore to be of few days or less. In addition, nearly 75% of the compound was eliminated from the fish after exposure ended.

### 1.1.1 Laboratory study

Table 01: Data on the toxicity of temephos to aquatic organisms

Species	Test type	LC/EC <sub>50</sub> (mg a.s./L)	Reference
<b>Fish</b>			
Rainbow trout	24 h; TGAI (86.2%)	3.49	US-EPA RED Extonet
Rainbow trout	s.a., 96 h	31.8	MSDS Abate 500E , Bayer E. S.
Rainbow trout	48 h	9.6	Agritox
	96 h	9.6	Pesticide Manual
Guppy <i>Lebistes reticulatus</i>	24 h	> 200	Agritox
Gambusia <i>Gambusia affinis</i>	72 h	> 200	Agritox
Largemouth Bass <i>Micropterus salmoides</i>	24 h	> 200	Agritox
Channel catfish	96 h, TGAI	> 10	Extonet
Atlantic salmon	96 h, TGAI	21	Extonet
Bluegill sunfih <i>Lepomis macrochirus</i>	TGAI (86.2%), 96 h	21.8	US-EPA RED Memorandum Agritox, Extonet
Bluegill sunfih <i>Lepomis macrochirus</i>	<sup>14</sup> C temephos	BCF = 2300 (whole fish)	BASF Doc ID TM-519-002
Bluegill sunfih <i>Lepomis macrochirus</i>	<sup>14</sup> C temephos	Several major and minor metabolites identified, rapid decline during deuration phase	BASF Doc ID TM-519-001
<b>Invertebrates</b>			
Stonefly <i>Pteronarcis</i> <i>spp.</i>	TGAI (86.2%)	0.01	US-EPA RED
<b>Mollusc</b>			
Eastern oyster <i>Crassostrea virginica</i>	TGAI (86.2%), 96h	0.22	US-EPA RED Memorandum

Table 02: Data on the toxicity of the formulation EC to aquatic organisms

Species	Test type	LC/EC <sub>50</sub> (mg a.s./L)	Reference
<b>Fish</b>			
Rainbow trout	24 h; formulation EC (43%)	0.158	Extonet US-EPA RED
Rainbow trout	Formulation Abate (90%)	> 8.6	BASF Doc ID TM-560-001
Sheepshead minnow	Formulation 4-E 46.1% a.s., saltwater, 96 h, GLP	4.7	BASF Doc ID TM-560-008
Bluegill sunfish <i>Lepomis macrochirus</i>	Formulation EC (43%)	1.14	US-EPA RED Memorandum Extonet
Coho salmon	96 h, formulation EC	0.35	Extonet
Atlantic salmon	96 h, formulation EC	6.7	Extonet
Largemouth bass	96 h, formulation EC	1.44	Extonet
Channel catfish	96 h, formulation EC	3.23	Extonet
<b>Invertebrates</b>			
<i>Daphnia magna</i>	Formulation 4-E 46.1% a.s., 48 h, GLP	0.011.10 <sup>-3</sup>	US-EPA RED Memorandum BASF Doc ID TM-560-005
<b>Mollusc</b>			
Eastern oyster <i>Crassostrea virginica</i>	Formulation EC 43%, 96h	0.17	US-EPA RED Memorandum
Eastern oyster <i>Crassostrea virginica</i>	Formulation 4-E, 96 h, GLP	0.014	BASF Doc ID TM-560-013
<b>Crustacean</b>			
Pink shrimp <i>Penaeus duorarum</i>	Formulation EC 43%, 96h	0.0053	US-EPA RED Memorandum

Table 03: Data on the toxicity of the granular formulation to aquatic organisms

Species	Test type	LC/EC <sub>50</sub> (mg a.s./L)	Reference
<b>Fish</b>			
Sheepshead minnow	Formulation 5-CG 5.7% a.s., 96 h, GLP	5.4	BASF Doc ID TM-560-009
<b>Invertebrates</b>			
<i>Daphnia magna</i>	Formulation 5% G, 48 h	0.054.10 <sup>-3</sup>	US-EPA RED Memorandum
<b>Mollusc</b>			
Eastern oyster <i>Crassostrea virginica</i>	Formulation 5-CG 5.7% a.s., 96 h, GLP	0.015	BASF Doc ID TM-560-006
<b>Crustacean</b>			
Pink shrimp <i>Penaeus duorarum</i>	Formulation 5-CG 5.7% a.s., 96 h, GLP	0.014	BASF Doc ID TM-560-007

“The low solubility of 0.030 mg/L and the relatively high Koc of 22 000 might suggest that some laboratory sediment toxicity testing should be performed. However, measurements of residues in sediment from field studies generally concluded that temephos tends to rapidly adsorb to organic media and further degrade to low or undetectable concentrations. The most recent field study, which monitored temephos in sediments over a three year period, (1995-1997) did not detect temephos in the sediment after 24 hours” (RED Temephos US-EPA). However, no limit of detection is given in this evaluation.

As a result of these field data, a sediment toxicity study will not be necessary at this time. In addition under laboratory conditions, temephos was shown to rapidly degrade with a measured DT<sub>50</sub> of ca 17 days in the whole water sediment system.

### 1.1.2 Field study

The following studies were assessed by the US-EPA (Environmental Protection Agency). These studies were summarised in the Revised Environmental Fate and Effects Assessment of the Reregistration Eligibility Document for Temephos.

They are reported in the following paragraphs. The majority of them are conducted in marine environment, which is not representative of the defended essential use: aquatic tested species are different and not always representative of the environment in which the product is applied. The tested doses are lower than the recommended dose. No additional details are available.

However, these studies are important because they show that, in systems more complex than the laboratory conditions, there is an important recovery of the medium in the days or weeks which follow the applications.

01/

<b>Report :</b>	Sanders, Herman O. and Walsh, David O., and Campbell. 1981.; Abate: Effects of the Organophosphate Insecticide on Bluegills and Invertebrates in Ponds. U.S. Fish and Wildlife Service. Technical Bulletin 104.
-----------------	--

**Tested Substance**

Abate EC (45.1% ai)

**Description of Study**

The objective of this study was to determine if Bluegill and aquatic invertebrates are adversely affected. Six 0.04 ha earthen ponds were used in this study, and had an average depth and volume of 0.88 m and 311 m<sup>3</sup>, respectively. Three applications were applied at 40 and 4 µg ai/L at approximately one month interval between applications.

**Findings**

No acute bluegill mortality

02/

<b>Report :</b>	Siefert, et. al. 1986. Effects of Abate® (Temephos) on Non-Target Aquatic Organisms in a Natural Pond Undergoing Mosquito Control Treatment. U.S. EPA Environmental Research Laboratory Progress Report, Duluth. 105 pp.
-----------------	--

**Tested Substance**

Abate EC (45.1% ai)

Abate 1% granular

**Description of Study**

Two applications were applied at 89.2 g/ha at approximately 14 days interval between applications.

Two reference ponds (0.567 and 0.729 haA) and one treatment pond (0.405 ha = 1 A) were monitored to obtain field data on the effects of mosquito larvicide applications to non-target aquatic organisms. Environmental conditions including dissolved oxygen, temperature, pH, precipitation, rainfall, and outlet stream flow were monitored prior to, during and after the study. Water and sediment samples were also collected and analyzed.

**Findings**

- No bluegill mortality
- Fewer fry at higher rates (40 µg ai/L)
- AchE (acetylcholinesterase activity) not affected
- Not detected in sediment from 1 hr to 14 days
- Lab tests suggest acute toxicity 5-20X greater than TGAI
- Several changes in zooplankton community. Recovery occurred, but growth patterns altered.

- Macro invertebrates increased in densities
- Cladocerans and Chaoborus very sensitive
- Short-lived in water and toxic at detection limit (<0.7 ppb)

03/

<b>Report :</b>	Abate®: Abate and Abate Sulfoxide Residues in Environmental Samples - Water, Sediment and Four Aquatic Species (Chrisfield, MD and Newark, DE). American Cyanamide Company, Report No. C-333, November, 1972.
-----------------	---

**Tested Substance**

Abate 4EC (45.1%)

**Description of Study**

The objective of this study was to determine the effects of Abate on marine organisms in relation to the ecological food chain. Measurement of residue data was used to give insight into persistence.

Four marine species (killifish, grass Shrimp, Blue Claw Crab, and American oyster) were exposed to dosages of Abate® 4E under field conditions in the Chrisfield, Maryland (MD) study. Samples were taken 3 days after treatment for the first three treatments and daily for two weeks after the final treatment. Sizes of treatment areas (test plots) were not reported. In addition, raw data and tables were not included. The Newark, Delaware (DE) site conducted experiments in “micro-marsh” testing pools in which natural salt-marsh conditions were simulated (details not given). Killifish and grass shrimp composite samples were taken 7 days after the final treatment. Water and sediment samples were taken for 4 weeks after treatment.

The rates of application were:

MD: Five appl. at timing of 14, 28, 28 and 14 days respectively at rates of 13.3, 26.8, 80.3, 160.7 and 321.4 g/ha

DE: Four appl. at 14 and 28 days respectively at a rate of 80.3 g/ha.

**Findings**

- Highest residue accumulation in oysters (concentrations not reported)
- Crab residues from 0.06 to 3.11 ppm after 2<sup>nd</sup> treatment
- Maximum Abate sediment concentrations was 0.53 ppm
- Maximum Abate Sulfoxide concentration was 0.4 ppm
- Rapid adsorbing to sediment and conversion to Abate Sulfoxide

04/

<b>Report :</b>	Carey, W.E. and R. Iadevaia. 1976. Abate Residues in Salt Marsh substrates. Proceedings of the 63rd Annual Meeting of the NJ Mosquito Control Commission, pp. 186-193.
-----------------	--

**Tested Substance**

Abate 2CG

Abate 4EC (45.1%).

**Description of Study**

Ten granular applications at a rate of 89.3 g/ha at 2 week intervals.

Four liquid applications at 28.5 g/ha at 2 weeks intervals.

This study was conducted as a field study to measure residues of Abate in salt marsh substrates.

In 1973 a 0.6075 ha plot near Tuckerton, New Jersey was treated at 2-week intervals with 10 granular applications of Abate 2CG as described above.

In addition, in 1974 a 3.04 ha salt marsh plot near Manahawkin was treated with 4 liquid applications of Abate 4E at 28.5 g ai/ha at 2-week intervals.

At the Tuckerton site water was monitored on an hourly basis for Abate residues in 5 potholes. The following year 3 of the 5 potholes were monitored.

Three potholes were monitored at the Manahawkin site after the applications.

Algae, grass, and soil samples were taken at the same potholes on day 1 and weeks 1 and 2 after application. Samples were also collected at control plots where Abate was not detected.

## Findings

- Granular applications result in very low subsurface concentrations
- Abate 4EC applied to the surface is transferred to surfaces of plant, algae, and other available materials within 24 hours.
- *S. Alterniflora*, a sparse grass which was subjected to flooding had greater soil exposure than *S. patens*, a dense grass not subjected to flooding.

05/

<b>Report :</b>	Forgash, A.J. 1976. A Summary of Studies of the Impact of Temephos and Chlorpyrifos on the Salt Marsh Environment. Proceedings of the 63rd Annual Meeting of the NJ Mosquito Control Commission, pp. 94-98.
-----------------	---

## Tested Substance

Abate 2CG

Abate 4EC (45.1%)

## Description of Study

The objective of this study was to determine the impact of temephos (Abate) on a salt marsh ecosystem.

Ten granular applications at a rate of 89.3 g/ha at 2 week intervals.

Four liquid applications at 28.5 g/ha at 2 week intervals.

This study was conducted as a field study to determine the impact of temephos (Abate) on a salt marsh ecosystem. In 1973, 4 0.405 ha plots (2 treated and 2 control) near Tuckerton, New Jersey were marked out for the measurement of effects of temephos to bird species. Two additional plots (1 treatment and 1 control) were marked for grass productive, non-target organisms, and .residues studies. Ten granular applications of Abate 2CG were applied as described above. In addition, in 1974, five 3.04 ha salt marsh plots near Manahawkin were treated with 4 liquid applications of Abate 4E at 28.5 g/ha at 2-week intervals. Two of the five plots were used as controls, one for the Abate 4EC treatment, one for a Dursban (Chlorpyrifos) treatment, and one as a bird control plot. Although the details of the studies are not given, observations and measurements were said to be made at frequent, periodic intervals before, during and after treatment.

## Findings

- Salt marsh grasses (*S alterniflor* and *S. patens*), isopods, amphipods, and snails, and birds species tested not affected.
- Did not appear to effect survival, growth, or behaviour in fish for Abate 2G.
- Growth retarding effects to fish observed with Abate 4EC
- Abate 2G reduces the density of natural fiddler crab populations
- Crab activity was impaired by sublethal doses making larvae susceptible to bird predation.

06/

<b>Report :</b>	MD Department of Agriculture. A Study of the Effects of Abate, Applied for Mosquito Larvae Control on Non-Target Organisms in a Maryland Tidal Marsh. 1977. Unpublished Report. 9 pp.
-----------------	---

**Tested Substance**

Abate 4EC (45.1%)

**Description of Study**

The objective of this study was to determine the acute toxicity of Abate 4EC to estuarine organisms found to be most sensitive under laboratory conditions.

One application at 42.8 g/ha

This study was conducted in August 1977 on the salt marshes at the Deal Island Wildlife Management Area on the Eastern Shore of Maryland. Abate 4EC was applied to 101.2 ha at a rate of 42.8 g ai/ha. An additional control plot about 2 miles south was not treated. The selected four test species of non-target organisms indigenous to salt marshes included the eastern oysters (70 individuals), the blue crab (10 individuals), the grass shrimp (140 individuals) and the mallard duck (10 individuals). Observations were made for mortality prior to and 24 and 48 hours after application.

**Findings**

- Negligible 48-hour mortality to the four salt marsh organisms tested.

07/

<b>Report :</b>	Liem, K.K., and R.N. LaSalle. 1976. Effects of Abate 2G® and Abate 4E® Mosquito Larvicides on Selected Non-Target Organisms Coexisting with Mosquito Larvae in Woodland Depressions. Mosquito New 36(2): 202-203.
-----------------	---

**Tested Substance**

Abate 2CG

Abate 4EC (45.1%)

**Description of Study**

The objective of this study was to establish the effects of granular and flowable temephos formulations on non-target organisms under field conditions.

One application Abate 2G at 4.46 kg/ha and one application of Abate 4EC at 27.7 g ai /ha.

The non-target organisms used in this study were representatives of the cladocerans, copepods, ostracods, and damselfly. The breeding sites were observed daily and 10 dips of water were taken at each site and poured through a plankton net. Population

estimates were determined and recorded for a period of 5 days before treatment and 10 days after the treatment. The pre-treatment dips were used as the controls to record the natural development of untreated populations.

### Findings

- Most non-target populations returned to original population levels after 48 hours of application.
- Cladocerans were most susceptible (7 days for recovery needed)

08/

<b>Report :</b>	Fortin, C., A. Maire, and R. LeClair. 1987. The Residual Effect of Temephos (Abate® 4E) on Non-Target Communities. Journal of the American Mosquito Control Association. 3(2): 282-288.
-----------------	---

### Tested Substance

Abate 4EC (45.1%)

### Description of Study

The objective of this study was to study the impact of temephos on non-target organism in relation to the time of recovery of these populations.

One application Abate 4EC at 2.23 kg ai/ha.

Three man made ponds were treated to assess the impact of temephos (Abate 4E) on non-target organisms. The first pond was untreated and served as a control pond, while the second and third were treated at a rate of 2.23 kg ai/ha on May 14, 1982. The first and the third pond contained about the same water volume, shape, surface area, and depth, while the second pond differed enough to have a direct effect on the thermal regimen of the ponds. Three samples of 5 liters were collected at predetermined transects at each pond, filtered, and fixed in a 5% formaldehyde solution. Beginning on May 4, 1982, the ponds were sampled 3 times prior to application, then at 3 or 4 day intervals for the 2 weeks after application, then on a weekly basis throughout the season. The ponds were also sampled 5 times the following summer. Physicochemical characteristics were also measured at each sampling time.

### Findings

- Non-target populations recovered 3 weeks after the application.
- Temephos did not persist in treated water

09/

<b>Report :</b>	Pierce, R.H., Henry, M.S., Proffitt, L.S., and Evans, R.K. 1989. Impact Assessment of Mosquito Larvicides on Non-Target Organisms in Costal Wetlands. Mote Marine Laboratory, Sarasota, Fl.
-----------------	---

### Tested Substance

Abate 4EC (45.1%)

### Description of Study

The objective of this study was to measure the impact of Abate (temephos) applications on coastal shorebird populations and their prey under field conditions

Three aerial applications of Abate were made 2-week intervals (on 8/27/88, 9/10/88, and 10/28/99) at an average rate of 27.7 g ai/ha to 3 sites plus 1 control site. Crabs and mussels were collected from the St. Jude area of Lee County, Florida up to 24 hours after application. Larvicide residue field collections included residue monitoring on mangrove leaves, water pools, leaf litter/detritus, fiddler crabs, and mussels. Residues on mangrove leaves were determined by collecting 30 leaves from each site. Leaf litter/detritus were obtained by collecting a composite sample from each site. Residues in water were collected in a 1-L water sample at each site. Residues in mussels and fiddler crabs were determined by collecting at least 12 individuals from each site.

Three sites were also chosen for bird study sites. An additional control site was located in the mangrove and salt marsh fringes of Charlotte Harbor. The method used to monitor birds was to routinely visit predetermined points and recording bird species seen and/or heard for three 5-minute intervals. The primary purpose of these recordings were to provide insight into the within group variation between observational periods at each point.

### Findings

- No acute toxicity was observed in adult fiddler crabs
- Tidal water did not retain larvicides in detectable amount for greater than 24 hours
- Mussels did not accumulate Abate in detectable quantities
- Fiddler crabs retained Abate in concentrations similar to that found in leaf litter. Possible internal bioaccumulation or physical adsorption to the crab shell
- Abate residues found in leaf litter persisted up to 96 hours after application
- Sediment samples contained a small but consistent amount of Abate for up to 168 hours
- At least 13 species of listed birds were observed at or near the habitat typically sprayed
- In total, 115 bird species were documented during the study period
- Most wading birds make heavy use of the isolated ponds upland of the saltern habitat, as well as the salterns, when standing water is present.

10/

<b>Report :</b>	Pierce, R.H., Henry, M.S., Levi, M.R., and Lincer, J.L. 1990. Impact Assessment of Mosquito Larvicides on Non-target Organisms in a Salt Marsh Community and on Selected Listed Species of Marsh and Shore Birds of the Southwest Florida Coast. Mote Marine Laboratory, Sarasota, FL.
-----------------	--

### Tested Substance

Abate 4EC (45.1%)

### Description of Study

The objective of this study was to

1) Assess the impact of temephos on larvae and juveniles of non-target salt marsh organisms during a 15-month period (July 1, 1989 to September 30, 1990).

2) Determine what levels of temephos were in the eggs and/or young of selected species at various distances from the study area; and determine where these birds were feeding.

Three applications at 2-week intervals at a rate of 27.7 g ai/ha.

The objective of the first study was to assess the impact of temephos on larvae and juveniles of non-target salt marsh organisms during a 15-month period (July 1, 1989 to September 30, 1990). Five field applications were made with temephos (Abate 4-E) at the rate of 27.7 g ai/ha on 7/21/89, 8/18/89, 9/14/89, 8/7/90, and 9/7/90. The primary organism of study was the larvae of the marsh fiddler crab (*Uca rapax*). However, the mangrove tree crab (*Aratus pisonii*) and the marsh crab (*Sesarma* sp.) were also tested as well as the snook fry (*Centropomus undecimalis*), the adult specimens of the invertebrate (*Mysidopsis bahia*), and the sheepshead minnow (*Cyprinodon variegatus*). In addition, two field sites were monitored on July 7 and September 6, 1990 as field controls without a temephos application to assess the survival of the marsh fiddler crab (*Uca rapax*), the mangrove tree crab (*Aratus pisonii*), and snook fry (*Centropomus undecimalis*) larvae. All were compared to the mortality rate of the target salt marsh mosquito larvae *Aedes taeniarhynchus*. To measure temephos distribution and persistence at the surface glass fiber filter pads were placed at ground level and collected one hour after application. Water samples were also taken before and after application to measure exposure to aquatic organisms. The amount of temephos remaining in the mangrove canopy was established by analysis of mangrove leaves at various time intervals after application.

The second study was a follow-up of a previous avian one year study in which over 115 bird species were documented as having used the marsh study areas. Thirteen of these species were listed species. The objective of this study was to 1) determine what levels of temephos were in the eggs and/or young of selected species at various distances from the study area; and 2) determine where these birds were feeding. Key bird species and rookery sites were selected for the study in accordance with availability and abundance as well as their likelihood of representing the top level of the food web. (It was pointed out that a limited number of osprey and possibly great blue heron eggs were collected and broader geographic coverage of colonies were limited because many of the key species occupied the centers of the colonies and were, therefore, unobservable.) Eggshell thicknesses for collected eggs were measured, and the only conclusion that could be made was that temephos could not be detected in any of the 40 eggs or 8 prey items that were analyzed.

## Findings

- Temephos residues in water after application ranged from 0.6 to 108 µg/L (ppb).
- Small concentrations of temephos were recovered from the *Uca* and *Aratus* crabs as well as the coffee bean snail, ribbed mussel, and sheepshead minnow, indicating a potential for accumulation in the food chain.
- Temephos was observed to be almost 10 times more concentrated at the water's surface indicating that organisms in contact with the water surface are more vulnerable.
- The 1990 studies concluded that there was a 30% mortality of *Uca* crabs and a 20% mortality of *Aratus* crabs 6 hours after application. However, the mosquito larvae experienced a 100% mortality.

- The crab larvae were not frequently present when mosquito larvae are developing. Better timing of temephos applications could avoid exposure to crab larvae.

11/

<b>Report :</b>	Pierce, R.H., Brown, R.C., Henry, M.S., Hardman, K.R., and Palmer, C.L.P. 1988. Fate and Toxicity of Abate® Applied to an Estuarine Environment. Mote Marine Laboratory, Sarasota, Fl.
-----------------	--

### Tested Substance

Abate 4EC (45.1%)

### Description of Study

The objective of this study was to investigate the fate and toxicity of Abate (temephos) in a mangrove system following mosquito larvicide application to intertidal mangrove-fringed estuarine areas.

Five applications in 3 episodes at a rate of 27.7 g ai/ha (0.031 lb ai/A) for each application:

- 1) Two applications at 4-day interval
- 2) One application.
- 3) Two applications at 3-day interval.

One control and one test area were studied. Three separate application episodes of Abate® 4EC were monitored at a rate of 27.7 g ai/ha. The first episode was a 96-hour period where 2 applications were applied at 4 day interval (June 13 and June 17) with sample collections for residue analysis and toxicity monitoring of caged organisms at intervals of 1 hr, 6 hrs, 24 hrs, and 48 hrs after each application. The second episode was a 24-hour period where 1 application was applied on July 24 with sample collections and toxicity monitoring at 1 hr, 3 hrs, and 24 hrs after application. The final episode was a 96-hour period where 2 applications were applied at a 3-day interval (September 29 and October 2) with sample collection and toxicity monitoring at 1 hr, 2 hrs, 4 hrs, 7 hrs, 24 hrs, and 72 hrs after the first application, and 1 hr, 2 hrs, 4 hrs, 7 hrs, and 24 hrs after the second application.

The objective of the study was "determining the distribution and persistence of temephos applied to an estuarine environment during routine applications and to establish the acute toxicity to select marine organisms under normal larvicide application conditions."

Residue data was collected on the surface water, mangrove leaves, sediment, and oysters. For field toxicity tests, 6 estuarine species were observed for behavior and mortality. These species are *Ampelisca abdita*, *Eohaustorius estuarius*, *Leptocheirus plumulosus*, or *Rhepoxynius abronius*. The six species tested in this field test were the mysid shrimp (*Mysidopsis bahia*), snook (*Centropomis undecimalis*), brown shrimp (*Panaeus aztecus*), grass shrimp (*Palaemonetes pugio*), sheepshead minnow (*Cyprinodon variegatus*), and pinfish (*Lagodon rhomboides*).

### Findings

- Brown shrimp and pinfish not acutely affected.

- 14% mortalities in mysid shrimp. No acute toxicities for sheepshead minnows, snook, and grass shrimp.
- Temephos not detected in oysters after 72 hours.
- No residues observed after in water 1-2 hrs due to tidal flushing
- Temephos remained on leaf surfaces and tidal pools up to 72 hrs.
- Negligible amounts of temephos found in sediment samples
- Potential problems in static pools and upper salt marshes due to lack of tidal flushing in these areas.

12/

<b>Report :</b>	Pierce, R.H. 1993. Effects of the Mosquito Larvicide, Temephos, to Non-target Organisms in a Salt marsh Community. Mote Marine Laboratory, Sarasota, Fl.
-----------------	---

### Tested Substance

Abate 4EC (45.1%)

### Description of Study

The aim of this study was to assess the impact of temephos on non-target salt marsh organisms with an ultimate goal to determine whether the use of temephos creates an unacceptable risk to non-target organisms within a south Florida salt marsh.

Two series of five applications at a rate of 13.4 g ai/ha (0.015 lb ai/A) for each application. (Each series were sprayed at different locations.)

First Series: 3 applications with 4 week interval between applications.

Second Series: About 6 weeks after last application of first series 2 more applications with 7 day interval.

One control and one test area were studied for mortality monitoring at the St. Jude area site.

Three applications of Abate® 4EC were applied at a rate of 13.4 g ai/ha on 6/5, 7/31, and 8/28/92. Ten *Aratus* spp. Crab larvae were placed in each of 6 cylinders in floating trays. Additionally, 10 mosquito larvae were placed in each of three nytex cylinders. Two trays were used at each site, one with a cylinder of mosquito larvae and 3 cylinders of *Aratus* larvae and the other with 2 cylinders of mosquito larvae and 3 of *Aratus* larvae. Two cylinders at each site were used to return to the lab for long-term observation after the 6-hour field exposure period.

The second test site at Bonita Springs area was similarly set up to study the effect of a reduced larvicide dosage on mortality of the freshwater mosquito larvae, *Culex migripalpas*. Applications were made on 10/16 and 10/23/92.

Temephos concentrations were analyzed from the surface and mid-depth water to assess the distribution and persistence of temephos. Filter pads were also placed at the larval exposure sites, the control site, and in the open marsh area and collected 1 hour after application to measure the amount of temephos settling in the marsh.

The laboratory toxicity tests were conducted for the *Aratus* crabs using both static and water exchanges systems on 4/21/92, 5/4/92, 5/19/92, and 6/9/92. The *Uca* crabs were tested on 7/15/92, 9/4/92, and 9/29/92. These studies were said to follow EPA protocols, but complete details and the raw data of these studies did not appear in the report.

### Findings

- Temephos concentrations in salt marsh water of 27.7 g ai/ha are suspected of having adverse effects on *Aratus* spp. and *Uca* spp. larvae.

- Reduction of temephos to 13.4 g ai/ha reduced field concentrations below acute toxicity levels for *Aratus* spp.
- Lab tests showed temephos more highly toxic to *Aratus* than *Uca*.
- *Uca* spp present in the mid-marsh, and therefore not as susceptible as *Aratus* spp.
- 48 hr LC50 ranged from 6.4 to 49.8 µg/L for *Aratus* spp.
- *Uca* 96 hour LC<sub>50</sub>s ranged from 5.6 to 14.9 µg/L. 48-hour LC<sub>50</sub>s ranged from 56 to >67µg/L.

13/

<b>Report :</b>	Pierce, R.H. 1993. Temephos Distribution and Toxicity in a South Florida Salt marsh Community. Mote Marine Laboratory, Sarasota, Fl.
-----------------	--

### Tested Substance

Abate 4EC (45.1%)

### Description of Study

The objective of this study was to determine if aerial application of temephos is detrimental to non-target organisms in a South Florida mangrove fringing salt marsh community.

The experimental approach was to assess the environmental exposure and follow-up with an evaluation of the environmental hazard to representative salt marsh organisms based on laboratory toxicity tests. The final outcome was to propose application conditions which would reduce the risk to non-target organisms while providing effective control of mosquito larvae.

To assess the environmental exposure an aerial application of temephos was applied to upper and mid-marsh areas on September 2, 1993 where the most abundant crab species (*Uca rapax* and *Aratus pisonii*) were known to occur. The application rate was not specified in the actual report, however, the summary indicated a rate of 13.4 g ai/ha (0.015 lb ai/A). Water samples at the surface and mid-level depths were collected prior to and at 1 and 5 hours after application. A second application was applied on September 17 to the upper marsh area only at low tide and water samples were collected prior to and at 1, 4, 5, and 6 hours after application.

Samples were again collected at surface and mid-depth at the upper, middle, and lower marsh sites.

The environmental hazard evaluation was determined by comparing the EECs from the field studies to the Estimated Toxic Threshold (ETT) determined from both laboratory and field toxicity tests. The ETT was defined as the concentration of temephos exposure at which there was no difference in percent survival between test and control larvae through two days past the first molt. Laboratory toxicity tests for determination of the ETT were performed for both the *Uca* and *Aratus* crab larvae with both the technical form of the active ingredient and the product formulation (Abate®).

The larvae for the toxicity tests were used 1 to 2 days after enclosure, and to simulate tidal flushing the exposure water was exchanged at 70% at 6 hours, 50% at 24 hours and 50% every 48 hours thereafter. Three replicate sets of 20 larvae at 5 concentrations and 2 replicate sets of controls, one in salt marsh water and one set in water plus methanol which was used as a dispersant. The test concentration levels for temephos were 2.5, 5, 10, 15, and 20 µg/L. For the Abate formulation the test

concentrations were 2.5, 5, 7.5, and 10 µg/L, based on the amount of temephos in the water.

Field toxicity tests were also conducted in the salt marshes by exposing mosquito and crab larvae (*Aratus pponisii*) for 6 hours (5 hours for the 1993 study), then removing them from the marshes. They were promptly returned to the laboratory and monitored for a period of 12 days. The objective of these tests was to establish effects on survival through the first molt. The tests run in 1992 utilized *Aratus* crab larvae and mosquito larvae. The 1993 tests run the *Uca* crab larvae and the saltwater mosquito larvae, *Aedes thaeniorhynchus*.

## Findings

- Temephos concentration after 1 hour ranged from 3 to 10 µg/L at the low tide mid-marsh *Uca* site. The concentrations ranged from 1.0 to 1.8 µg/L temephos at high tide five hours after application. None was detected in the lower marsh
- After second application to upper marsh area only, no temephos was detected in middle or lower marshes during out-going tide.
- Lab tests showed no difference in crab larvae toxicity between the technical and Abate.
- 1992 field test concluded no immediate concern, but significant mortality through first molt
- 1993 field test showed increased mortality during first molt for *Uca* larvae in mid-marsh, but no effect for *Aratus* in lower marsh.
- Study concludes that when applications are restricted to upper marsh areas risks to crab larvae is reduced or eliminated.

14/

<b>Report :</b>	Pierce, R.H. Henry, M.S., and Culter, J.K. 1998. Ecological Impact Assessment of Abate® on Florida State Lands/Salt Marsh communities. Mote Marine Laboratory, Sarasota, Fl.
-----------------	--

## Tested Substance

Abate 4EC (45.1%)

## Description of Study

The objective of this study was to address the concern for possible adverse effects from applications of the mosquito larvicide abate (temephos) on State-owned salt marsh lands along the intertidal regions of Cape Coral, Florida.

Both control and application areas were designated for monitoring the benthic infauna and temephos concentrations before and after the applications benthic macroinfauna were monitored to account for the extreme environmental conditions due to the monthly variations from wet to dry. Another component to the study was the application of adulticides (malathion or baytex) over residential areas as needed after adult mosquitoes emerged. Therefore, the drift from these adulticides was also monitored.

Temephos was aerially applied three times in 1995 (5/1, 5/22, and 6/6), 1996 (6/14, 7/3, and 7/20), and 1997 (5/14, 6/25, and 7/17) at a rate of 0.5 fl. oz./A (0.015 lb ai/A). For adequate replication of samples the number of test and control sites were increased from two to four pairs of sites for 1996 and 1997. Samples were collected at

each site at the water (surface micro layer and mid-depth), surface sediment, and at glass-fiber filter pads to monitor the amount of larvicide deposition to the marsh surface. The monitoring included collections at pre-application, 2 hours, 24 hours, and 96 hours post-application for the 1995 applications. Filter pads were retrieved 1 hour post-application for 1996 and 1997. Invertebrate samples were collected pre-application and 96 hours post-application at each study site, and a Hester Dendy invertebrate settlement collector was added in 1996 and 1997 sampling to reduce the natural habitat variability from one site to another. Snail mesocosm studies were also established to assess the impact on natural populations of marsh invertebrates. One control site and one test site was used and monitored 96 hours after the 6/1/95 application and during final field collection on 10/11/95.

## Findings

- 1995 data conclude that no temephos was detected at the surface water and very little in mid-depth after 96 hours. None detected in sediment surface water after 24 hours.
- 1996 data showed no detectable levels of temephos residue in sediment.
- 1997 data concluded that no detectable temephos levels were found in control areas. Temephos not detected in surface sediment samples.
- 1995 benthic data concluded no long-term exposure or accumulation. Greater species diversity at control sites.
- 1996 benthic data showed high level of temporal and spatial variation.

## General conclusion

*Although these studies do not yield toxic endpoints required, they have a benefit in that they show results under more realistic field conditions. The data summarized in these aquatic field studies have demonstrated the following conclusions regarding risk to non-target aquatic organisms.*

*1. Non-target aquatic invertebrate populations tend to reestablish to their original population levels within three weeks after application (Fortin, et. al., 1976). In another study, (Liem, et. al., 1976) Cladocerans appeared to be the most sensitive taking 7 days to recover after two applications. The other three representatives tested (copepods, ostracods, and damselflies) reestablished after 48 hours. In another study, (Siefert, et. al., 1986) observed recovery to the zooplankton community, but growth patterns were altered.*

*2. Ten applications of the granular 2G formulation did not appear to affect survival, growth, or behavior in fish, but growth retarding effects were observed after 4 applications of the liquid Abate 4E formulation (Forgash, et. al., 1976). No acute mortality, growth effects, or acetylcholinesterase inhibition was observed in bluegill (Siefert, et.al., 1981). No acute effects were observed in pinfish, sheepshead minnows, or snook (Pierce, et. al., 1988).*

*3. A Florida salt marsh field study conducted in 1989 concluded that there was no acute toxicity to adult fiddler crabs when salt marsh areas were treated three times at 2-week intervals at a rate of 27.7 g/ha (0.031 lb ai/A) (Pierce, et. al., 1989). However, continued work in 1990 concluded that there was a 30% mortality of the fiddler crab larvae (*Uca rapax*) and a 20% mortality of the mangrove tree crab larvae (*Aratus pisonii*) six hours after application (Pierce, et. al., 1990). A further 1993 study concluded that concentrations in salt marsh water resulting from an application rate of 27.7 g/ha) is suspected of having adverse effects on the fiddler crab and the mangrove tree crab.*

Laboratory studies revealed that the mangrove tree crab with a 48-hour LC<sub>50</sub> range of 6.4 to 49.8 µg/L was found to be more sensitive than the fiddler crab (LC<sub>50</sub> = 56 to >67 µg/L). The mangrove tree crab inhabits the lower marsh areas which are not being treated, and exposure to this species was greatly reduced. Further, when the application was reduced to 13.4 g/ha and sprayed in the upper and mid-marsh areas where the fiddler crab is found, the exposure concentrations were reduced to below the fiddler crab acute toxicity level while still killing 100% of the mosquito larvae (Pierce, et. al., 1993).

Further field toxicity studies were conducted to establish the effects of larval survival through the first molt (Pierce, et. al., 1993). The results of the 1992 study showed significant mortality through the first molt (almost 50% in one test). The 1993 study showed increased mortality for the *Uca rapax* (fiddler crab) in the mid-marsh, but no effect to the *Aratus pisonii* (mangrove tree crab) in the lower marsh. The net conclusions of these studies are when minimum application rates 13.4 g ai/ha are restricted to upper marsh areas, risk to crab larvae are reduced or eliminated. It is also interesting to note that the laboratory results showed no difference in crab larvae sensitivity between the technical temephos and the formulated product (Abate 4EC). In contrast, the acute toxicity data available for fish indicate that the formulated product is much more toxic than the technical. The rainbow trout LC<sub>50</sub> for the technical is 3,490 ppb, and 158 ppb for the formulated product. No data related to the toxicity on *Daphnia magna* are available.

A number of the conducted field studies relating to the fate of temephos under field conditions have verified much of the laboratory data which was reviewed. In addition, much information concerning residue concentrations in various media has been obtained.

Some field studies confirm the laboratory data which characterizes temephos as not persisting in the water column. According to one study temephos was not detectable (although no limit of detection (LOD) was given in the report) in tidal waters for more than 24 hours (Pierce, et. al., 1989). In a 1990 study residues in water after application ranged from 0.6 to 108 µg/L (Pierce et. al., 1990). Temephos concentration after 1 hour ranged from 3 to 10 µg/L at low tide in a mid-marsh site and 1.0 to 1.8 µg/L at high tide 5 hours after application in a 1993 study (Pierce, et. al., 1993).

A study conducted in 1972 by American Cyanamid concluded that temephos was rapidly adsorbed to sediment and converted to temephos sulfoxide. The measured concentration of temephos sulfoxide was 400 µg/L. There was also evidence to show that the liquid temephos formulation was up to 10 times more concentrated at the water's surface (Pierce et. al., 1990). Although not quantified, granular applications resulted in very low sub-surface concentrations (Carey, et. al., 1976).

Residues detected in sediment showed a wide range of results. A 1981 study did not detect temephos in sediment from 1 hour to 14 days (Siefert, et. al., 1986). A study from 1972 showed temephos sediment concentrations of 530 Fg/L (American Cyanamide, 1972).

Another study showed a small but consistent amount of temephos in sediment for up to 168 hours (Pierce, et. al., 1989). The most recent study which monitored temephos sediment over a three year period (1995-97), did not detect temephos in the sediment after 24 hours (Pierce, et. al., 1998). Temephos was detected in various media substrates as well as sediment in many of the studies. A 1976 study found that Abate was transferred to surfaces of plant, algae, and other available materials within 24 hours (Carey et. al, 1976). Temephos was also found to remain on leaf surfaces and tidal pools for up to 72 hours, most, however, was dissipated into the estuary by tidal flushing (Pierce, et. al., 1988). Temephos residues found in leaf litter persisted up to 96 hours after application (Pierce, et. al., 1989). Small concentrations of temephos were also recovered from the fiddler crab and mangrove tree crab as well as the coffee bean snail, ribbed mussel, and sheepshead minnow, however quantities were not given

(Pierce, et. al., 1990). Temephos residues in Crab ranged from 60 to 3,110 ppb after 2<sup>nd</sup> treatment (American Cyanamide, 1972). In a 1988 study temephos was not detected in oysters 72 hours after treatment (Pierce, et. al., 1988). Mussels did not accumulate in detectable quantities 24 hours after application in a 1989 study (Pierce, et al., 1989).

15/

<b>Report :</b>	Metge G., Franquet E. and Ponel P. La mise au pont d'une méthodologie d'évaluation de l'impact de deux insecticides sur des milieux temporaires colonisés par les Aedes ; 2001, 2002 Programme Life-Environnement, EID LIFE 99 ENV/F/00489 University of Aix-Marseille III, France
-----------------	---

### Tested Substance

Abate

### Description of Study

The objective of this study is to define the impact of temephos on various ecological levels and to determine the most sensitive taxonomic group. Only the last application was relevant to conclude on the impact of temephos.

Application of 102.4 g/ha (11/07/2001)

Application of 125 g/ha (02/09/2002)

### Findings

- July 2001: Chironomid, Cyclopoid, Baetidae, Calopterigydae. These taxonomic groups appeared after the treatments from the 13/07, they are not affected by the treatment

- September 2002: Cyclopoid, Batidae (Scm-Phc) : the treatment led to a decrease of populations. Calopterigydae. On the ecological levels Scm-Phc and Phc: the treatment led to a decrease of populations on 04/09 and 09/09. The population recolonise the environment on 16/09.

16/

<b>Report :</b>	Hanazato T., Iwakuma and Yasuno M. (1989) Effects of Temephos on Zooplankton Communities in Enclosures in a Shallow Eutrophic Lake Environmental Pollution 59, 305-314
-----------------	--

### Tested Substance

Abate 5%

### Description of Study

Large volume enclosure was constructed in Lake Suwa (Japan) to determine the influence of temephos onto the different species of zooplankton communities. Enclosures were constructed at a 4.2 m deep with a surface area of 25m<sup>2</sup> open to the lake sediment. Volume of each enclosure (4 in total ie two treated and two controls) is of 105 m<sup>3</sup>. In august 1986 the equivalent of 500 µg active substance was applied as Abate insecticide with 5% of temephos and containing 90% xylene.

### Findings

In the studied systems, cladocerans and copepods showed a slight (if any) recovery after being absent for 26 days and 40 days respectively in the two treated enclosure. Cladocerans were found to be very sensitive to temephos as expected. As the residual concentration of temephos in the system were close to or higher than LC50 values of the most sensitive species of cladocerans (*Daphnia pulex* from unpublished information of the authors i.e. LC50 of 0.07-0.09 µg/L), no recovery of cladocerans was expected. Cladocerans were found more sensitive than copepods by a factor estimated at 10 by the authors of the study. In addition to these populations, rotiferan communities were also affected although to a lesser extent and in addition, temporary disappearing of predators like cladocerans influenced the growth of rotiferan community. The application of temephos also altered the composition of this community showing within that group different sensitivity of the individual species.

In conclusion, the population of cladocerans is severely affected and did not show a recovery under the tested conditions (equivalent of 500µg/L and during maximum of 40 days). Less severe effects were noted for the other populations of copepods and rotiferans.

### 1.1.3 Risk assessment for aquatic organisms

A PNEC is regarded as a concentration below which an unacceptable effect will most likely not occur. In principle, the PNEC is calculated by dividing the lowest short-term L(E)C50 or long-term NOEC value by an appropriate assessment factor. The assessment factors reflect the degree of uncertainty in extrapolation from laboratory toxicity test data for a limited number of species to the 'real' environment. Assessment factors applied for long-term tests are smaller as the uncertainty of the extrapolation from laboratory data to the natural environment is reduced.

#### Initial risk assessment

The most unfavourable data from the laboratory studies is the endpoint for *Daphnia magna* (study conducted with the formulation EC).

$EC_{50} = 0.011 \mu\text{g/L}$

The most sensitive species is the invertebrate species and *Daphnia magna* is extremely sensitive. Freshwater aquatic invertebrates such as amphipods are highly susceptible to temephos as are some marine invertebrates.

According to the recommendations of the TGD (Technical guidance Document) and because only short-term toxicity data are available, an assessment factor of 1000 must be applied on the lowest  $EC_{50}$ .

However, the size of the assessment factor depends on the confidence with which a  $PNEC_{\text{water}}$  can be derived from the available data. Data are available for several fish species, for invertebrates, for molluscs and crustacean. Because the substance was tested on various species given information on the inter-species variation, it may lead to a lowered assessment factor :100.

Then, the calculated PNEC is:  $PNEC_{\text{temephos}} = 1.1 \cdot 10^{-4} \mu\text{g/L}$

$$PEC_{\text{surface water}} = 0.114 \text{ mg/L}$$

PEC/PNEC using these conservative figures indeed would lead to a serious concern to aquatic organisms especially under the proposed conditions of uses. Aquatic invertebrates (or copepods) are considered the most sensitive species, to the exception of larvae of insects and will demonstrate these populations at risks when temephos is used as recommended. Due to its environmental properties (low solubility in water, high adsorption onto colloids, fast dissipation in water phase and in the whole water sediment system) the impact would be limited in time and recuperation was shown to occur within weeks. Therefore a PNEC mesocosm should be a more reliable end point to take into account these properties. Actually under the proposed conditions of use, not all the field data which could be used for a proper mitigation of risks or a refined risks assessment.

## 1.2 NON-TARGET TERRESTRIAL ANIMALS

Because Temephos is only applied directly to water, it is not expected to have a direct impact upon terrestrial animals. Birds and mammals are not exposed to the formulation by feeding contaminated plants or plant part. Terrestrial animals may be exposed to temephos via drinking water.

Additionally, due to the tendencies for temephos to bioconcentrate, a piscivorous bird or mammal scenario was proposed to assess the risk to fish-eating birds and mammals.

### 1.2.1 Toxicity on birds

Tests with various wildlife species were conducted to assess the toxicity of temephos on birds. The toxicity data are reported in the following table. Acute and short-term toxicity data indicate that the bobwhite quail is the most sensitive species and demonstrate that temephos is relatively toxic by ingestion to birds.

According to a study of oral ADME (adsorption, distribution, metabolism and excretion) in rats and pigs conducted by BASF/ ADME (BASF DocID TM-440-001), excretion is complete within 96 h, 65% in faeces mainly as parent compound, 33% in urine, mainly as 4,4'-thiodiphenol.

Table 04: Summary of the avian toxicity of Temephos

Species	Conditions	Endpoint	Result	Reference
<b>Acute single oral</b>				
Mallard duck	-	LD <sub>50</sub>	80 mg/kg b.w.	Agritox
Mallard duck	Temephos technical	LD <sub>50</sub>	2150 mg/kg b.w.	BASF Doc ID TM-505-004
Japanese quail	-	LD <sub>50</sub>	84 mg/kg b.w.	Agritox
Pheasant	-	LD <sub>50</sub>	31.5 mg/kg b.w.	Agritox

Species	Conditions	Endpoint	Result	Reference
Bobwhite quail	Temephos technical	LD <sub>50</sub>	25.2 mg/kg b.w.	BASF Doc ID TM-505-005
Bobwhite quail	Temephos technical (94.7%)	LD <sub>50</sub>	27.4 mg/kg b.w.	US-EPA RED Memorandum
House sparrow	-	LD <sub>50</sub>	35.4 mg/kg b.w.	Agritox
<b>Short-term dietary</b>				
Mallard duck	-	LC <sub>50</sub>	> 1400- < 1600 ppm	Agritox
Mallard duck	Temephos technical (86.9%)	LC <sub>50</sub>	894 ppm	US-EPA RED Memorandum
Japanese quail	-	LC <sub>50</sub>	> 230-< 270 ppm	Agritox
Pheasant	-	LC <sub>50</sub>	> 150-< 170 ppm	Agritox
Bobwhite quail	Temephos technical (86.9%)	LC <sub>50</sub>	92 ppm	US-EPA RED Memorandum
Bobwhite quail	-	LC <sub>50</sub>	> 90-< 110 ppm	Agritox
Pigeon	-	LC <sub>50</sub>	50.1 ppm	Agritox
<b>Long-term reproduction</b>				
Mallard duck		Mallards fed diets containing moderate amounts of temephos showed no changes in reproduction except in the frequency of egg-laying		Extonet PIP Temephos
Mallard duck	45 d, frequency of egg-laying	NOEL	1 ppm i.e. 0.12 mg/kg bw/d*	US-EPA database

\* Conversion by considering the worst case where the daily dose eaten by a bird during reproduction studies correspond to 12% of its bodyweight

No acceptable reproductive studies have been submitted, however, field data that has been submitted for review indicate that there is very little, if any, impact on birds.

### 1.2.2 Toxicity on mammals

The acute toxicity data on mammals are reported in the following table.

Tableau 05 : Oral acute toxicity study in the rat

Species	Endpoint	Result	Reference
Rat (male-female)	LD <sub>50</sub>	3410-5247 mg/kg b.w.	MSDS Temephos technical Charda Chemicals Ltd
Rat (male-female)	LD <sub>50</sub>	2030-2330 mg/kg b.w.	
Rat (male-female)	LD <sub>50</sub>	4204-> 10000 mg/kg b.w.	BASF Doc ID TM-410-002
Rat	LD <sub>50</sub>	3100 mg formulation/kg b.w.	FDS Temephos 500 g/L SC Gharda Chemicals Ltd

According to the US-EPA, a NOEL of 0.3 mg/kg/d could be selected for the long-term risk assessment. This endpoint is based on inhibition of cholinesterase in the red blood cells of rats of both sexes at 0.9 mg/kg/d (LOAEL) in a 90-day feeding study. The toxic effect was observed within one week after initiation of treatment, and thus is considered to be appropriate for a short term (1-7 day) assessment. Use of this same endpoint for the chronic assessment is supported by similar doses and endpoints seen in another subchronic toxicity study in rats, as well as a chronic study in dogs where red blood cell and plasma cholinesterase inhibition occurred from one week onward.

### 1.2.3 Risk for drinking water

Species that frequent open water bodies are liable to ingest residues of active substances that reach water. The exposure concentration in this case is equal to PEC<sub>surface water</sub>, obtained from the environmental fate section.

PEC<sub>surface water</sub> = 0.114 mg/L after the last application

In some situations, some species may obtain all their daily water demand directly from puddles of spray liquid. Because the product is directly applied on the water surface, the exposure concentration is calculated from the applied dose, without dilution or drift.

The daily water intake is calculated allometrically as follows (Calder and Braun 1983):

For the birds: Total water ingestion rate (L /day) = 0.059W<sup>0.67</sup>

For the mammals: Total water ingestion rate (L/day) = 0.099W<sup>0.90</sup>

Where W is the body weight in kg. Thus, the daily dose of active substance is calculated as (PEC<sub>drinking water</sub> \* total water ingestion rate) / W.

The TER are calculated for the case of a 1000 g-bird and a 350 g-mammal for which long-term toxicity data are available.

Table 06: TER after drinking water

species	Weight	Total water	Daily dose	NOEL	TER	Trigger
---------	--------	-------------	------------	------	-----	---------

	(kg)	ingestion rate (L /day)	(mg ai/kg bw/d)	(mg ai/kg bw/d)		value
Mallard duck	1.20	0.067	$6.4 \cdot 10^{-3}$	0.12	18.8	> 5
Rat	0.35	0.038	$4.3 \cdot 10^{-3}$	0.3	69	

Results of the calculation indicate that the amount of temephos that birds would be exposed to through normal water intake is much less than the potentially lethal concentration, and thus not of concern.

#### 1.2.4 Risk for fish-eating birds

A value of  $\log P_{ow}$  higher than 3 may signify a bioaccumulation risk through the trophic chain. The  $\log P_{ow}$  of temephos is 4.91. Then the bioaccumulation risk is assessed through two food pathways by birds according the Guidance Document of the European Commission SANCO/4145. The following models were provided by works of Jager (1998) and Crocker et al. (2002).

A study performed with bluegill sunfish revealed a bioconcentration factor (BCF) of 2300 for the whole fish (see aquatic risk assessment).

##### 1.2.4.1 Bioaccumulation in fish

*A 28-day dynamic exposure of 120 acclimated fish to a concentration of  $^{14}\text{C}$ -Temephos of  $0.65 \pm 0.12 \mu\text{g/l}$  indicated rapid uptake of radioactivity by the fish. Daily bioconcentration factors for fillet, whole fish, and viscera ranged from 63-970, 99-2300, and 150-3900, respectively. The uptake concentrations of  $^{14}\text{C}$ -Temephos in tissues ranged from 50-630 ppb, 78-1500 ppb, and 120-2500 ppb for fillet, whole fish, and viscera, respectively. No mortality or abnormalities were observed in the Temephos-exposed fish.*

*The 14-depuration phase indicated 75, 75, and 78 percent depuration from fillet, whole fish and viscera, respectively and indicated a gradual decrease through the depuration phase. The  $^{14}\text{C}$ -Temephos residues in the 28-day uptake phase dropped from 630 ppb to 160 ppb (fillet), 1500 ppb to 380 ppb (whole fish), and 2500 ppb to 560 ppb by the end of the 14-day depuration period.*

*The uptake rate constant ( $K_1$ ), the depuration rate constant ( $K_2$ ) the depuration half-life ( $t_{1/2}$ ), the [steady state] bioconcentration factor (BCF), and the time to reach 90% of steady state were calculated using the non-linear BIOFAC kinetic modeling program. The standard deviation of each estimated parameter was use as a measure of variability. The results are summarized as follows:*

$$K_{1(\text{uptake})} = 200(\pm 16);$$

$$K_{2(\text{depuration})} = 0.086(\pm 0.0073);$$

$$t_{1/2(\text{depuration})} = 8(\pm 0.68) \text{ days}$$

$$BCF_{\text{steady state}} = 2300(\pm 270)$$

$$\text{Steady state}_{90\%} = 27(\pm 2.3) \text{ days}$$

*The metabolic fate of <sup>14</sup>C-Temephos in the fish was determined by characterizing the chemical nature of residues in fillet, whole fish, and viscera at 21 and 28 days exposure. The extracted residues (methanol:methylene chloride, 1:1 v/v; 95% extraction efficiency) were cochromatographed (2-dimensional thin layer chromatography) with authentic standards of parent and suspected metabolites.*

*Parent Temephos was the major residue identified in fillet, whole fish, and viscera in 21 and 28 day samples. In fillet, whole fish and viscera Temephos was found at 490, 1700, and 1000 ppb, respectively in 21-day samples. In 28-day samples, 630, 2500, and 1500 ppb were respectively present in fillet, whole fish and viscera. The percent of applied Temephos found as intact Temephos was: (1) fillet, 79% at 21 days and 86% at 28 days; (2) whole fish, 73.6% at 21 and 28 days; viscera, 82% at 21 days and 59% at 28 days.*

*Temephos sulfoxide was the major metabolite. In terms of applied radioactivity, Temephos sulfoxide accounted for: (1) fillet, 5.1% at 21 days, and 4.5% at 28 days; whole fish, 6.8% at 21 and 28 days; viscera, 9.2% at 21 days and 12.8% at 28 days. Other minor hydrolytic and oxidative metabolites, each at equal or less than 4%, were also found. One of the metabolites, 4,4'-thiodiphenol, are the result of losing both phosphorothioate groups from the parent metabolite. The two other metabolites, phosphorothioic acid, O-p-(p-hydroxyphenylthio) phenyl, O,O'-dimethyl ester and phosphoric acid, O-p-(p-hydroxyphenylthio)phenyl dimethyl ester, contains only one organophosphate group; in the latter metabolite, the sulfur group in the phosphorothioate group was replaced by oxygen. All of these three metabolites preserve the sulfide linkage, that is, they are not a sulfoxide or a sulfone. Non-identified metabolites (2 to 9) were present at 4 to 13% and were mostly present in the viscera.*

#### 1.2.4.2 Risk for fish-eating birds

There is a potential risk for predators feeding on contaminated prey for a prolonged period of time, and this risk must be assessed. The relevant species recommended by the guidance document (SANCO/4145/2000) are a 1000 g-bird and a 3000 g-mammal, even if observed species in this environment have various size and weight: mallard duck, Greater Flamingo, slender-billed gul, gull-billed tern cattle egret by example for birds and Eurasian otter or European pond turtle for terrestrial vertebrates.

Residues in fish may be estimated from  $PEC_{sw, twa}$  at 21 days (77 µg/L)

$PEC_{fish} = BCF * PEC_{sw, twa}$  (21 d) in mg/kg food

$PEC_{fish} = 2300 * 0.077 = 177.1$  mg/kg fish

Applying a factor of 0.21 (1000-g bird eating 206 g fresh fish per day, as recommended by guidance document SANCO/4145/2000), the daily dose eaten by a fish-eating bird may be  $0.21 * PEC_{fish}$  in mg temephos/kg bw/day.

Applying a factor of 0.13 as recommended by guidance document SANCO/4145/2000), the daily dose eaten by a fish-eating mammal may be  $0.13 * PEC_{fish}$  in mg temephos/kg bw/day.

Daily dose =  $0.21 * 177.1 = 37.2$  mg/kg bw/d for birds

Daily dose =  $0.13 \times 177.1 = 23.0$  mg/kg bw/d for mammals

The comparison of daily dose to the NOEL value leads to a toxicity to exposure ratio.

Table 07 : TER for fish-eating birds and mammals after use of temephos

Species	PEC <sub>sw</sub> , 21 d, twa (µg/L)	PEC <sub>fish</sub>	ETE (mg/kg bw/day)	NOEL (mg/kg bw/day)	TER	Acceptable TER value
Bird	0.077	177.1	37.2	0.12	0.003	> 5
Mammal	0.077	177.1	23.0	0.3	0.01	

The TERs are widely lower than the trigger value. Therefore, a potential risk for fish-eating birds and mammals is predicted.

However field data (Forgash, 1976; Pierce et al., 1990 Pierce et al., 1989 described in point 1.2.1) that have been submitted for review indicate that there is very little, if any, impact on birds. In fact the mitigation of this calculation includes that the dissipation in water of the active substance is rapid, the depuration of the active substance present in fish tissues is also fast and nearly complete, therefore chronic exposure is not likely to occur limiting the potential for secondary poisoning or effects to fish eating birds as well as mammals. (US-EPA).

### 1.2.5 Toxicity to bees - hazard quotients

Table 07: Toxicity data of temephos to bees

<b>Test substance</b>	Temephos
<b>Test object</b>	Honeybee
<b>LD<sub>50</sub> µg a.s./bee Contact toxicity, 48 h</b>	1.55
<b>Reference</b>	MSDS Temephos technical Gharda Chemicals Ltd Pesticide Manual, Agritox

According to the European directive 96/12/EC, the risk towards bees may be assessed with the calculation of hazard quotients (HQ), based on the ratio of the maximum applied dose (in g a.s./ha) to the LD<sub>50</sub> (in µg a.s./bee).

Because the product is applied directly on water, we consider that the risk for bees is due to the contamination on the adjacent zone of the treated area by the drift of spraying.

The maximum drift to adjacent zones corresponds to an aeroplane application. According to the Guidance document FOCUS (2001) the drift is 33.2% (data extracted from AgDrift). The maximum dose susceptible to contaminate the adjacent zones is 41.5 g a.s./ha.

The contact hazard quotient (QH<sub>C</sub>) is calculated based on the maximum drift rate (41.5 g a.s./ha) and the corresponding LD<sub>50</sub> values from the toxicity tests (in µg a.s./bee).

Table 08: Hazard quotients for honeybees exposed to temephos

Application rate (g a.s./ha)	Acute toxicity (µg a.s./bee)	Hazard quotient <sup>1</sup>	Annex VI trigger value
41.5	Contact LC <sub>50</sub> = 1.55	26.7	< 50

<sup>1</sup> Application rate divided by the LD/C<sub>50</sub>.

The contact hazard quotient is lower than the trigger value of the Directive 97/57 (50) indicating no potential risk for bee populations after application of TEMEPHOS at the recommended application rate.

### 1.2.6 Impact on soil non-target micro-organisms

Report BASF DocID TM 539-001 (1986, non GLP). Effect Temephos and Temephos-sulfoxide on nitrification in soil: strong variability of results between replicates and therefore this study was not taken for consideration for any potential effects.

---

## REFERENCES

BASF. Temephos. List of endpoints following Biocidal Products Directive 98/8/EEC. 10 February 2006.

Bayer Environmental Science. Fiche de sécurité de ABATE 500<sup>E</sup> MOUSTIQUES. Dernière révision : 10.02.2006.

US-EPA Memorandum HED Chapter for the Reregistration Eligibility Decision (RED) Document. Chemical No. 059001 Case No. 818974 Barcode D240786. From Goodyear J.J. Biologist. Evans W. Biologist., Parker R. Senior environmental engineer, Termes S.C. Chemist. Environmental fate and Effects Division (7507C).

US-EPA Reregistration Eligibility Decision (RED) Document. [Reregistration Eligibility Decision \(RED\)](#)

EXTOXNET PIP – TEMEPHOS\_260106: <http://extoxnet.orst.edu/pips/temephos.htm>

FOCUS (2001). "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.

Gharda Chemical Ltd. Fiche de sécurité du Temephos technique. Dernière révision : 15.05.2002.

Guidance document on risk assessment for birds and mammals under council directive 91/414/EEC. European Commission, SANCO/4145/2000, 24 September 2002

Hanazato T., Iwakuma and Yasuno M. (1989)  
Effects of Temephos on Zooplankton Communities in Enclosures in a Shallow Eutrophic Lake  
Environmental Pollution 59, 305-314  
INRA. Agritox Database : <http://www.inra.fr/agritox/>

SSM. Versailles. Evaluation du risque environnemental des produits phytopharmaceutiques. Révision 6-5, octobre 2004. Commission d'étude de la toxicité des produits antiparasitaires à usage agricole et des produits assimilés des matières fertilisantes et des supports de culture.

*The pesticide Manual*. C D S Tomlin (editor). Thirteenth Edition., 2003

US-EPA Memorandum HED Chapter for the Reregistration Eligibility Decision (RED) Document. Chemical No. 059001 Case No. 818974 Barcode D240786. From Goodyear J.J. Biologist. Evans W. Biologist., Parker R. Senior environmental engineer, Termes S.C. Chemist. Environmental fate and Effects Division (7507C).

US-EPA Reregistration Eligibility Decision (RED) Document. [Reregistration Eligibility Decision \(RED\)](#)

## LIST OF ABBREVIATIONS

BCF: Bioconcentration factor  
CG: Encapsulated granule (A granule with a protective or granule release-controlling coating)  
EC: Emulsifiable Concentrate (A liquid, homogenous formulation to be applied as an emulsion after dilution in water)  
ETE: Estimated Theoretical Exposure  
HQ: Hazard quotient  
LC<sub>50</sub>: Lethal concentration, 50%  
LD<sub>50</sub>: Lethal dose, median  
NOEL: No Observed Effect Level  
PIP : Pesticide Information Profiles

**TEMEPHOS**

**Toxicology**

**DATE**

**mars 2006**

## 1 INTRODUCTION

Temephos is an organophosphate insecticide which is widely used for larval control.

Several formulations are currently used in Europe for this purpose:

Commercial name	Active substance content	Formulation type	Authorised dose
Abate 500 E moustiques	500 g/L	EC	125 g/ha
Larviphos 500 EC	500 g/L	EC	125 g/ha
Abate 1% granule moustiques	500 g/L	EC	125 g/ha

As individual reports were not available to the reviewer, this evaluation is based on reviews previously conducted by different official bodies (references indicated in part I of the reference section). The references of individual studies, when found, are indicated in part II.

## 2 METABOLISM

### 2.1 ADME STUDIES

When [3H-phenylene]temephos, was administered to rats by mouth, radioactivity reached a peak in the blood between 5 and 8 hr and then dissipated with a half-time of about 10 hr. Appreciable radioactivity was found only in the gastrointestinal tract and fat. Both in the faeces and in the fat, most of the activity came from unchanged insecticide, but small amounts of the sulfoxide were present also. Traces of temephos were found in the urine, but the principal urinary metabolites were sulfate ester conjugates of 4,4'-thiodiphenol, 4,4'-sulfinyldiphenol, and 4,4'-sulfonyldiphenol. At least 10 other components could be extracted but were not identified. In the guinea pig, absorption apparently was less than in the rat, and biliary excretion of metabolites was demonstrated (Blinn, 1969).

### 2.2 DERMAL PENETRATION STUDIES

In a non-guideline dermal penetration study, <sup>14</sup>C-ring labeled temephos (98% a.i.) was applied to the intact clipped mid lumbar area of Sprague-Dawley male rats, New Zealand White male rabbits and male beagle dogs (number of animals/species/group not specified). The area of application (8.25 cm<sup>2</sup>) was covered with a non-occlusive patch for 7 days (HSPA Letter, 1976).

The quantitative dose was diluted in methanol and applied at 4 µg/cm<sup>2</sup> or 33 µg/each species (rat, rabbit and dog). Another group of dogs received a higher dose of 40 µg/cm<sup>2</sup> or 330 µg/dog. Urine and fecal excretions of <sup>14</sup>C were quantitated daily by counting radioactivity in liquid scintillation counter. Immediately following the final urine collection, all animals were sacrificed and sections of organs and tissues (lungs, liver, kidneys, spleen, testes, skin, muscle, fat and bone) were analyzed for retained radioactivity. A second group of animals were given labeled temephos intravenously to determine renal efficiency and to assess the systemic elimination for each species. The femoral vein of the rat, the marginal ear vein of the rabbit, and the cephalic vein of the dog was injected with methanol solutions of <sup>14</sup>C-temephos. Urine and fecal excretion was collected from rats, rabbits and dogs daily for 7

days. Excretion rates for each day's collection were calculated as percent of the initial or applied dose. Blood was drawn from dogs only, prior to injection, immediately after and at timed intervals to determine the disappearance rates from the circulation. At termination, representative specimens were taken from various organs and tissues (lungs, liver, kidneys, spleen, testes, skin, muscle, fat and bone) of each animal to determine retained labelled compound.

Mean total urinary recovery of <sup>14</sup>C- temephos following intravenous administration ranged from 46.9% in rabbits, 17.7% in rats and 11.8% and 9.6% in dogs. Fecal elimination accounted for 23% and 10.5% of recovered activity in dogs given 33 and 330 µg/dog, respectively but only 6.9 % in rats and 7.8% in rabbits . In all three species, the greatest percentage (69-79%) of <sup>14</sup>C-labeled temephos was excreted within the first 24 hours. Urinary excretion of dermally applied <sup>14</sup>C-temephos was greatest in the rabbit (24.6%), less in the rat (6.7%) and least in the dog (<1%).

Fecal elimination following dermal application accounted for a larger percentage of the total activity recovered from the rat (11%) compared to the dog (0.9%) or the rabbit (9%). The greatest percentage excreted in the urine occurred within 2 days following administration. Negligible amounts of activity were found in the organs and tissues of any animal or species following dermal administration. This suggests that most of the administered dose was metabolized and eliminated quickly and did not accumulate in any tissue or organ. The low overall recovery in excreta following dermal and intravenous dosing indicates that <sup>14</sup>C-temephos is stored in some tissues or eliminated by a route not accounted for in this study. One possible explanation for the dermal study is that most of the activity remained at the application site which was not monitored by the study. Support for this explanation was seen in the 330 µg/dog study where approximately 88% of the applied dose was recovered from <sup>14</sup>C-labeled "protective patch". The patches were not analyzed for radioactivity in the 33 µg/animal in the dog, rat or rabbit study. Percent dermal absorption for each species was calculated by dividing percent of the dose excreted in the urine following dermal route to the percent of the dose excreted in the urine by the i.v. route and multiplying by 100:

$$\text{Percent Dermal Absorption} = \frac{\% \text{ Dose Recovered in Urine via Dermal} \times 100}{\% \text{ Dose Recovered in Urine via Intravenous}}$$

$$\text{Rat Percent Dermal Absorption} = \frac{6.7 \% \times 100}{17.7\%} = \mathbf{38\%}$$

The percent dermal absorption was 38% in rats, 52% in rabbits and ~ 5.2% in dogs. The rat is the required species because the Test Guideline (870.7600) has been designed and validated for the rat. The rat was not intended as a model of dermal absorption through the human skin but rather as a test system for dermal absorption because the rat has been extensively used for metabolic and toxicological studies.

According to US EPA (Environmental Protection Agency), for risk assessment purposes, the dermal absorption percentage for rats (38%) should be used.

Overall estimation of EPA for the quality of this study is as follows:

- "This study is classified as Acceptable - Non-Guideline and does not meet the guideline (870.3100; 82-1) requirement for Dermal Penetration Study because only a summary report was submitted which contained many guideline deficiencies, number of animals/groups/species was not indicated; only one dose used in rats and rabbits; dermal site of application was less than 10% of the body surface area; dermal site was not washed; urine/faeces was not collected at early time periods (0.5, 1, 2, 4 and 10 hrs); the solvent used for labelled chemical dilutions was methanol (volatile solvent causing rapid evaporation); saturation dose is unknown. In spite of these study

deficiencies, this study provides a reasonable estimate of dermal absorption of temephos in the species studied (EPA Memorandum from January 27, 1999).”

### 3 ACUTE TOXICITY

Temephos is of low acute toxicity with oral and dermal LD50 which are all more than 4000 mg/kg bw with the exception of one rabbit dermal toxicity study in which the LD50 is 1300 mg/kg bw and one oral rat female toxicity study in which the LD50 is 1300 mg/kg bw (see Appendix 1).

Temephos LC50 is > 1.3 mg/L.

Temephos is slightly irritating to eyes but not irritating to skin of rabbits. The compound is not a dermal sensitiser.

Information on batches used for these acute toxicity studies was not available.

### 4 SUBCHRONIC TOXICITY

Groups of 7 rats received doses of temephos of 0, 1, 10, or 100 mg/kg bw/day by gavage for 44 days (dosing regimen not indicated). After 11 days, administration of the test compound to 'some' of the animals of the high-dose group was stopped. No mortality was reported in any of the groups. Rats given the highest dose developed typical symptoms of organic phosphorus intoxication (not specified) after 3 doses when their red blood cell AChE activity was inhibited by 64%. Gradual recovery from symptoms occurred while dosing progressed, even though the red blood cell AChE activity continued to fall to 87% inhibition after 11 days of dosing. In the animals that were allowed to recover after 11 days, red blood cell AChE activity was inhibited by 27% at the end of the experiment (44 days). The rats receiving 10 mg/kg bw showed no symptoms of intoxication, but red blood cell AChE was inhibited by 31% and 47% after 14 and 44 days, respectively. The NOAEL for inhibition of red blood cell AChE was 1 mg/kg bw/day (Gaines et al., 1967).

In a subchronic toxicity study, groups of rats (45 rats/dose/sex) were fed Temephos (purity 96.4%) in their diet at levels of 2, 6, or 18 ppm (equivalent to 0.1, 0.3 or 0.9 mg/kg/day) for 92 days to determine the highest dietary level which would not inhibit plasma, RBC or brain cholinesterase activity.

Another group of 45 rats/sex/group was fed with a diet containing Temephos at 350 ppm (17.5 mg/kg/day) dose level to determine a maximum tolerated dose and to induce histopathological effects. There were 65 rats/sex in the control group. Seven controls of each sex and 4 rats/sex/dose group were sacrificed at 1, 3, 5, 9 and 13 weeks of the study period for RBC, plasma and brain cholinesterase activity evaluation. ChE activity was also evaluated on four rats of each sex at week 12 of the study dosed at 350 ppm. At week 13 all survivors were given control diet and recovery of the ChE activity was determined 2 and 4 weeks later. One control male and one female each of the 6 and 18 ppm dose groups died during the study. At 350 ppm the female body weight gain was significantly depressed as compared to the controls. No treatment related changes were observed in clinical sign observations, ophthalmology evaluations and food consumption, clinical chemistry and hematology evaluations at all dose levels. No gross and microscopic treatment-related changes were noted in any dose group during the study. The liver/body weight ratio of the 2 and 350 ppm males and the 18 ppm females were significantly decreased as compared to the controls. Since dose-related trends in the liver/body weight ratio were not evident, these

decreases are not considered to be treatment-related. Because the greatest decrease in the liver/body weight ratio occurred in the 350 ppm males (-23% of control), this is judged to be treatment-related. Decreased RBC cholinesterase activity was noted in the 6 ppm males at weeks 9 and 13 (75% and 84% of control, respectively) and in 18 ppm males and females throughout the treatment period (64-85% and 65-89% of control, respectively). Significantly decreased RBC cholinesterase activity was noted in the 350 ppm males and females (8% and 11% of control, respectively) at week 12 (only measured time period). The RBC ChE activity decrease in the 18 and 350 ppm males and females were judged to be dose-related. At 6 ppm, the RBC ChE activity was decreased only in males (84% and 83% of controls, on weeks 9 and 13, respectively); this decrease was considered to be a borderline occurrence. Only the plasma cholinesterase activity was significantly depressed at 350 ppm in males and females at week 13 (52% and 39% of control, respectively) and this is judged to be treatment-related. Significant decrease in the brain cholinesterase activities was noted in males and females dosed at 350 ppm at week 13 (23% and 22% of females, respectively). Inhibition of the brain ChE activity in the 18 ppm males and females in the first five weeks of the study was also noted (81-85% and 81-91% of controls, respectively); these effects disappeared after the five weeks. Therefore this inhibition was considered borderline occurrence.

Since RBC ChE activity inhibition in the 6 ppm males and brain ChE activity inhibition in the 18 ppm males and females in the first five weeks of the study were considered to be equivocal, the study was repeated at dietary levels of 0, 6, 18 and 54 ppm to ascertain if borderline ChE activity inhibitions seen in this study were a definite and reproducible effect. In the repeated study, statistically significantly decreases in RBC cholinesterase activity was seen in both sexes at 18 and 54 ppm.

Based on the results of the first experiments, the systemic LOAEL is 350 ppm (17.5 mg/kg/day) based on decreased body weight (15%) and liver/body weight ratio (23%). The systemic NOAEL is 18 ppm (0.9 mg/kg/day). The ChE LOAEL for this subchronic study is 18 ppm (0.9 mg/kg/day), based on inhibition of RBC cholinesterase activity observed in both sexes in both repeated experiments. The ChE NOAEL is 6 ppm (0.3 mg/kg/day) (Levinskas GJ and Shaffer CB, 1970; EPA Memorandum from May 12, 1998).

According to US EPA, dose and endpoint for Risk Assessment: NOAEL = 0.3 mg/kg/day based on inhibition of RBC cholinesterase activity observed in both sexes at 0.9 mg/kg/day (LOAEL) as early as one week. This is considered as supported by the findings of a chronic study in dogs (Gaines et al., 1967) with a NOAEL of 0.46 mg/kg/day based on RBC, plasma, and brain ChE activity inhibition at 12.5 mg/kg/day (LOAEL) where RBC and plasma ChE activity inhibition occurred from week 1 onward.

## 5 MUTAGENICITY

The effect of temephos on several strains of bacteria has been tested (EXTOXNET 2002). Although one strain showed weak mutagenicity, the overall conclusion in this document was that temephos is not mutagenic. Tests on rabbits (test not specified) also have shown no signs of mutagenicity.

## 6 CHRONIC AND ONCOGENICITY STUDIES

---

## 6.1 COMBINED CHRONIC TOXICITY/CARCINOGENICITY STUDY IN RATS

---

Groups of 60 rats/sex/group were fed a diets containing Temephos (purity 93.5%) at 0, 10, 100, and 300 ppm (0, 0.5, 5.0, and 15 mg/kg/day) for two years. Rats used for the treated groups were derived from the offspring of 140 pregnant CD Sprague-Dawley rats that were treated with 100 ppm Temephos in the diet. The controls were from a separate shipment of the same strain of rats and age, derived from untreated female rats. No treatment-related effects were observed in survival, clinical signs, body weight/body weight gain, food consumption as well as in hematology, clinical chemistry and urinalysis parameters evaluated at 6 weeks, 3 months, 12 months and at termination of the study. There was a slight increase in absolute liver weight and liver/body weight ratio of both sexes of rats at 300 ppm (absolute weight: 8% in males and 14% in females, and relative liver weight, 18% in males and 6% in females). However, since dose-related trends were not evident in either sex, these increases were not judged to be related to treatment. The most frequently noted gross pathology finding was mammary masses in the females. Histopathologically, these masses were identified as adenocarcinoma. These tumor incidences are evenly distributed among all groups (18, 21, 19 and 18 in the control, 10, 100, and 300 ppm females, respectively). Pituitary adenomas were also frequently noted in all groups, and no differences were noted as compared to their respective controls. Since no treatment related trends were evident, these mammary adenocarcinoma and pituitary adenoma findings were not considered to be treatment-related. For chronic toxicity, the NOAEL was 300 ppm; a LOAEL was not established.

Discussion of Tumor Data: There is no evidence of carcinogenicity  
US EPA considers that, for chronic toxicity, the NOAEL was 300 ppm (EPA Memorandum from May 12, 1998).

---

## 6.2 CARCINOGENICITY STUDY IN MICE: NOT AVAILABLE.

---

There was no sufficient data available for an adequate assessment of the compound carcinogenicity, as only one study on one species (rats) was available. In this study, no evidence of carcinogenicity was found.

---

## 7 REPRODUCTION AND DEVELOPMENT

---

### 7.1 REPRODUCTION TOXICITY

---

One-generation and a three-generation reproduction studies were conducted with temephos. The original study report for this one generation study was not available to confirm the reported symptoms of organophosphate induced poisoning in adult rats.

In a one-generation reproduction study (Gaines et al., 1967), a group of male and female rats (number of individuals unknown) was fed in the diet at 500 ppm (approximately 25 mg/kg/day) Temephos (90%) at the time they were placed together for breeding. Dosing was maintained through mating, gestation, parturition and lactation. Based on the results of the study, no significant differences in the fertility (pregnancy/matings), gestation (litters born alive/pregnancies), viability (pups surviving/pups born alive) and lactation indices for the Temephos-fed animals were observed compared with the controls. Numbers of litters and pups born alive and mean pup weight at weaning were comparable among the dose groups; numbers of litters (15 from 15 matings) were produced and the litter size averaged 10.5. Some 500 ppm Temephos-treated rats (number of individuals not indicated) showed signs of

ChE poisoning. Based on the data as presented in the study report, administration of temephos at 500 ppm (25 mg/kg/day) in the diet, had no adverse effects on the reproduction and lactation performance of rats. The toxicity endpoint was not verified because the original report was not found. The reproductive NOAEL is > 500 ppm (25 mg/kg/day) (highest dose tested). The systemic ChE NOAEL is < 500 ppm (25 mg/kg/day).

In a 3-generation reproduction toxicity study (Levinskas GJ and Shaffer CB, 1970; EPA Memorandum from May 12, 1998), Temephos (87.1% a.i.) was fed in the diet to rats at dose levels of 0, 25, and 125 ppm (0, 1.25, and 6.25 mg/kg/day). For the P generation, 24 rats/dose were mated once. For the F1 generation, 16 rats/dose were mated once, and for the F2 generations, 16 rats/dose were mated twice. In each generation, rats were mated when they were 3-4 months old. The pups were weaned directly onto the respective dose levels of their parents. The size of the litters was reduced to 10 pups on the fifth day after birth. This study was conducted as per standard procedures for a 3-generation reproduction study. Body weights of adult rats were comparable among the dose groups in all generations; slight decreases (<10%) in body weights were noted in the 125 ppm F1 and F2 males and females, but since the difference was small and dose-related trends were not evident, these decreases were not judged to be treatment-related. The gestation, viability and lactation indices for the P generation were comparable among the groups; slight decreases of the 25 and 125 ppm fertility indices and the 125 ppm pup weights as compared to the controls were noted, but they are not judged to be treatment-related. The fertility, gestation, viability and lactation indices for the F1 generation were comparable among the groups; a slight decrease in the 25 and 125 ppm pup weights as compared to the controls is not judged to be treatment-related. No adults died during the reproduction and lactation periods.

The fertility, gestation and lactation indices for the first mating of the F2 generation were comparable among the groups. Since a decrease in the 125 ppm pup viability index was noted as compared to the controls (82% versus 94%), a second mating was conducted for the F2 rats. No F2 adults died during the reproduction and lactation periods in the first mating. In the second mating of the F2 generation, one 25 ppm female died after delivering 6 dead pups. Two controls and four 25 ppm females failed to conceive. The fertility, viability, and lactation indices of the 125 ppm dose group exceeded the controls. Since the viability index of the 125 ppm dose group was higher than the controls (99% versus 83%), the low viability index of 82% noted in the F2 first mating is judged to be coincidental and hence not related to treatment. Overall the differences noted in the reproduction data in the F2 are not judged to be related to treatment. Gross observations without necropsy were conducted on all P and F1 pups. Gross and microscopic evaluations were conducted for all F2 pups of the control and 125 ppm groups. No consistent gross and microscopic effects were noted. However, a number of spleen hematopoiesis in pups were noted (20% in the control and 17% in the 125 ppm dose group); spleen hematopoiesis is a common occurrence in pups up to weaning.

Based on the results of the study, the fertility (pregnancy/matings), gestation (litters born alive/pregnancies), viability (pups surviving 5 days/pups born alive) and lactation (pup weaned/remaining pups after litter reduced at 5 days) indices for the temephos-fed animals were comparable with the controls. The combined (of all matings) mean pup weight at weaning was slightly higher in the 25 ppm dose group and slightly lower in the 125 ppm dose group as compared to the controls. There was a slight reduction in mean pup weights at weaning for both males and females in the 25 and 125 ppm P and in the 125 ppm F1 generations. Based on the data as presented in the study report, administration of temephos at 25 and 125 ppm in the diet, had no systemic toxicity and adverse effects on the reproduction and lactation performance of the rats were not noted.

For parental systemic toxicity, the NOAEL was > 125 ppm (6.25 mg/kg/day, highest dose tested.). For offspring toxicity, the NOAEL was also > 125 ppm (6.25 mg/kg/day, highest dose tested).

Only two instead of three treated groups were used. The lack of any signs of parental toxicity in the study even at 125 ppm (6.25 mg/kg/day) dose level suggests that this level was too low. Also, pups of the P and F1 generations were not subjected to gross necropsy. The test substance purity was low.

Based on these studies, the HIARC concluded that an adequate evaluation of the reproductive toxicity of temephos can not be made at the present time.

---

## 7.2 DEVELOPMENTAL TOXICITY

---

In a prenatal oral developmental toxicity study, pregnant New Zealand rabbits received oral administration of temephos (90.4%) in Tween 80 (1%) and deionized water at 0, 3, 10, or 30 mg/kg/day during days 6 through 18 of gestation. No maternal or developmental toxicity was seen at the highest dose tested (30 mg/kg/day). This study was classified as unacceptable since the highest dose tested was inadequate to elicit maternal toxicity and thus evaluate the developmental toxicity potential of temephos (EPA Memorandum from May 12, 1998).

In a prenatal dermal developmental toxicity study, pregnant New Zealand rabbits received repeated dermal applications of formulations containing temephos at 0, 12.5, 25 or 50 mg/kg/day during days 6 through 18 of gestation. For maternal toxicity, the NOAEL was 25 mg/kg/day and the LOAEL was 50 mg/kg/day based on decrease in body weights. For maternal cholinesterase inhibition, the LOAEL was 12.5 mg/kg/day based on plasma cholinesterase inhibition (brain ChE activity was not evaluated); a NOAEL was not established. For developmental toxicity, the NOAEL was 50 mg/kg bw/day (highest dose tested) (EPA Memorandum from May 12, 1998).

---

## 8 NEUROTOXICITY STUDIES

---

No evidence of organophosphate induced delayed neurotoxicity or neuropathology was observed in three acute delayed neurotoxicity studies in hens; however, these studies were judged to be inadequate for various technical deficiencies (Gaines et al. 1967).

---

## 9 HEALTH EFFECTS IN HUMAN

---

Few health-effect studies in humans have been conducted on temephos, and no effects have been reported (HSDB 2003). Nevertheless, it acts as an organophosphate cholinesterase inhibitor, for which much literature is available. Health effects from a typical cholinesterase inhibitor are as follows:

- Common early signs or mild symptoms of acute cholinergic poisoning include miosis (pinpoint pupils), headache, nausea/vomiting, dizziness, muscle weakness, drowsiness, lethargy, agitation, and anxiety.
- Moderate or severe poisoning can result in chest tightness, difficulty breathing, bradycardia, tachycardia, hypertension, pallor, abdominal pain, incontinence,

diarrhoea, anorexia, tremor/ataxia, fasciculation, lacrimation, heavy salivation, profuse sweating, blurred vision, poor concentration, confusion, and memory loss.

- Life-threatening or very severe signs and symptoms, such as coma, seizures, respiratory arrest, pulmonary oedema, loss of reflexes, and flaccid paralysis, can occur at high doses, such as in the cases of attempted suicide.

Effects of temephos on humans have not been reported in the literature, presumably because of its low acute toxicity (ATSDR, 2005).

### Human exposure through drinking water

A 19-month study was conducted with temephos added to all cisterns and other potable water containers in a community of approximately 2,000 people (Laws et al., 1968). The treatment occurred once a month and consisted of 1% temephos adsorbed to sand, in sufficient quantity to achieve a calculated concentration of 1 ppm (19 g of sand per 50 gallon/188 liter drum). Only one water sample ever had a Temephos concentration >0.5 ppm, attributable to the combined effects of adsorption, solubility, and dilution over time. No significant change was measured in either plasma or erythrocyte cholinesterase of the villagers at any time during the 19-month study. Urinary excretion of temephos reached steady state after 4 months. No illness attributable to the insecticides occurred, and all of eight babies born were normal.

### Human volunteer study

Humans who ingested 256 mg/day for 5 days or 64 mg/day for 4 weeks had no symptoms or any detectable effects on plasma or erythrocyte cholinesterase activity (Laws et al. 1967). At 70 kg for an adult, the doses are equivalent to 3.7 mg/kg/day for 5 days or 0.9 mg/kg/day for 4 weeks. When the standard water ingestion rate of 2 liters/day and the solubility of temephos (<1 ppm) are considered together, adult humans would be expected to receive <2 mg/day (0.028 mg/kg) from drinking water treated with Temephos. This scenario is extreme because daily water treatments are unlikely, so concentrations of temephos would decrease between treatments. The concentrations may be considerably below saturation (~1 ppm) even at their peak (the time of treatment). Given the no-observed-adverse-effect level (NOAEL) of 64 mg/day for 4 weeks, temephos is not expected to present a health hazard when used for larvicide water treatment.

### Dermal exposure

A 2% formulation of temephos in pyrax powder was applied to participants and their bedding from a shaker (57 g, equivalent to 1.1 g of temephos) or to clothed subjects from a powder duster (31 g, equivalent to 0.62 g) for an unknown duration (Steinberg et al. 1972). The treatment was considered safe although no specific criteria are indicated.

### Occupational exposure

Cholinesterase Monitoring: The Lee County Mosquito Control District in the US has submitted limited monitoring data from their cholinesterase testing program to EPA. Data were submitted for four job categories – inspector, aircraft mechanic, mixer/loader, and pilot. Each job category is represented by one individual. Blood samples were taken at intervals of approximately six months to one year from 1993 to 1995 yielding three or four samples per individual. Plasma and red blood cell cholinesterase levels were measured and expressed as a percentage of the reference range. For plasma cholinesterase “normal”

values range from 42 to 158 percent and for red blood cell cholinesterase “normal” values range from 71 to 130 percent of the reference level.

Summarized results for these four individuals are presented in Table A.

Table A. Results of cholinesterase sampling of four individuals (1 or 2 samples per year) representing four different job categories.

Job Category	Number of Samples	Sample Years	Plasma ChE (% of Reference Range)		Red Blood Cell ChE (% of Reference Range)	
Inspector	4	1993 – 1995	115 –	125	106 –	120
Aircraft Mechanic	3	1993 – 1995	78 –	85	96 –	104
Mixer / Loader	3	1993 – 1994	70 –	114	98 –	114
Pilot	3	1993 - 1994	80 –	98	114 –	124

The data in Table A show that the cholinesterase levels of the four individuals tested from 1993 to 1995 were within the reference range for the general population in the United States for all samples. These data have limited utility in addressing the cholinergic effects of organophosphate pesticides, specifically temephos, on the workers for the following reasons:

- Representativeness of four individuals to other member of the same job category is not established.
- Complete occupational exposure history to organophosphate pesticides is not known. A detailed description of how, when and for how long the pesticide was handled/applied prior to sample collection is not provided. Information such as percent active ingredient, formulation, dilution factors, concentrations of all impurities, inerts or other added ingredients is not known.
- Complete non-occupational exposure history to other cholinesterase inhibiting chemicals is not known. Examples of these other chemicals are organophosphates or carbamates used in and around the home.
- Baseline plasma and red blood cell cholinesterase levels were not established for each individual. While the cholinesterase levels in Table A are within the range of that for the general United States population, each individual has their own unique normal range.
- Comparisons between a given individual's plasma cholinesterase level and the reference population mean value is uninformative. For example, the mixer/loader in Table A had a plasma cholinesterase level of 70 percent of the reference level. This value could be interpreted as a 30 percent depression (as compared to the reference level), or as a normal value (if the individual's pre-exposure baseline level is lower than the reference level).
- The health history of subjects is not known. Confounding variables such as smoking status, diet or medication use or other exposures are not addressed. Further, the subjects were not assessed for possible clinical signs (symptoms of cholinergic effects) following pesticide activity such as self-reporting questionnaires and more quantifiable measures (e.g., blood pressure, heart rate).
- A non-exposed group (control) of individuals was not sampled. While it is important to establish the pattern of individual baseline (pre-treatment) blood levels, a separate control group needs to be established to compare values as well as to provide statistical comparisons.

---

## **10 OVERALL EVALUATION AND DERIVATION OF RELEVANT DERMAL PENETRATION, RELEVANT NOAEL AND REFERENCE MOS (REFMOS)**

---

### **10.1 SELECTION OF THE MOST RELEVANT DERMAL PENETRATION FACTORS FOR OPERATOR RISK ASSESSMENT:**

---

A 38% dermal absorption has been determined in rat. However, no information is available on the tested formulation which is likely to be a solid formulation.

Considering the high level of penetration, the non-GLP character of the study and the fact that only a summary is available, a dermal penetration factor of 50%, based on an expert judgement, is proposed for the operator exposure evaluation.

### **10.2 SELECTION OF THE MOST RELEVANT NOAEL FOR OPERATOR RISK ASSESSMENT:**

---

Operators are likely to be exposed several days per week during several weeks, if not months in case of important outbreak of vector born disease.

The most sensitive adverse effect appears to be RBC ChE inhibition.

One of the most relevant studies is the 28-day human study by oral route (Laws et al. 1967). In this study, no clinical symptoms or RBC ChE inhibition have been reported at a daily dose of 0.9 mg/kg bw/day.

This study is consistent with the 44-day rat study in which the NOAEL is 1 mg/kg bw/day (Gaines et al., 1967) which tends to demonstrate that rat and human are similarly sensitive to ChE inhibition effects of temephos. However, exposure duration may be short compared to expected duration and in the 90-day repeated oral rat study, 0.9 mg/kg bw/day appears to be a LOAEL. In the repeated study (cf p 5), 0.3 mg/kg bw/day is the NOAEL.

### 10.3 SELECTION OF THE MOST RELEVANT ASSESSMENT FACTORS (AF) FOR OPERATOR RISK ASSESSMENT

*Assessment factors applied for the calculation of refMOS for subchronic toxicity*

<b>Assessment factors</b>	<b>Value</b>
Interspecies	1 Several studies are available in Human. They all indicate that, as for most organophosphate insecticides, rat and human have similar sensitivity)
Intraspecies	5 (workers are considered as a more homogeneous population than the general population. Although there is no indication that some parts of the population are more sensitive to this type of insecticide, a factor of 10 can be used for bystander)
Exposure duration	2 (NOAEL clearly tends to decrease with the duration of the study and exposure of the operators may last more than 90 days)
Route-to-route extrapolation	1 (taken into account by dermal penetration)
Quality of the database	3 (non GLP studies and only summaries available)
refMOS	30

## 11 REFERENCE LISTS

**Part I:** list of review documents issued by official bodies and used for the constitution of this document:

- EPA Memorandum from September 23, 1999: Revised (phase 4) occupational and residential exposure. Assessment and recommendations for the reregistration eligibility decision document for Temephos (PC Code 059001; DP Barcode D240191-2) from Jonathan Becker, Ph.D., Environmental Health Scientist; Reregistration Branch II; Health Effects Division (7509C)
- EPA Memorandum from January 27, 1999: Dermal Penetration of Radio-labeled Temephos from Nicole Paquette, Ph.D. Reregistration Branch II; Health Effects Division (7509C)
- EPA Memorandum from September 29, 1999: TEMEPHOS: Revised HED Chapter for the Reregistration Eligibility Decision (RED) Document. PC Code: 059001. From Jonathan Becker, Ph.D. Reregistration Branch 2; Health Effects Division (7509C)
- EPA Memorandum from May 12, 1998: *TEMEPHOS* - Report of the Hazard Identification Assessment Review Committee. From David S. Liem, Ph.D. Reregistration Branch II Health Effects Division (7509C)
- EPA Memorandum from 21 May 1998: Occupational and residential exposure assessment and recommendations for the reregistration eligibility decision document for Temephos. From: Jonathan Becker, Ph.D., Environmental Health Scientist. Reregistration Branch II. Health Effects Division (7509C)
- EPA Memorandum from July 6, 1998: TEMEPHOS: HED Chapter for the Reregistration Eligibility Decision (RED) Document. Chemical No. 059001 Case No. 0006 Barcode D243362. From Nicole C. Paquette, Ph.D. Risk Assessor. Reregistration Branch 2. Health Effects Division (7509C)
- EXTOXNET (2002). Pesticide information profile for Temephos. Available at <http://pmep.cce.cornell.edu/profiles/extoxnet/pyrethrins-ziram/temephos-ext.html>. Accessed December 2, 2002; PIP "published" September 1993 and "last modified" December 19, 2001.
- HSDB (2003). Hazardous Substances Databank: Temephos. National Library of Medicine, National Toxicology Program. Available at <http://www.toxnet.nlm.nih.gov/cgi-bin/sis/htmlgen?HSDB>. Accessed February 19, 2003.
- Toxicologic Information About Insecticides Used for Eradicating Mosquitoes (West Nile Virus Control) April 2005. Prepared by: U.S. DEPARTMENT OF HEALTH AND HUMAN SERVICES Agency for Toxic Substances and Disease Registry. Division of Toxicology Atlanta, Georgia

**Part II:** list of the primary references of the studies discussed in this document :

- Blinn RC (1969). Metabolism fate of abate insecticide in the rat. J. Agric. Food Chem. 17, 118-122

- 
- Gaines TB, Kimbrough R, Laws ER Jr (1967). Toxicology of Abate in laboratory animals. Arch Environ Health 1967; 14: 283-8.
  - Hayes, Wayland J, Jr (1982) Pesticides Studied in Man. Baltimore/London: Williams and Wilkins, 1982., p. 376
  - HSPA Letter (1976), HSPA-H, US Army Health Services Command, Investigational. New Drug Application for Abate Pediculicide, US Army Environmental Hygiene Agency (USAEHA), Aberdeen Proving Ground, MD, Study # 75-51-1302-80, October 20, 1976. Unpublished Study.
  - Laws ER Jr, Morales FR, Hayes WJ Jr, et al. (1967). Toxicology of Abate in volunteers. Arch Environ Health 1967; 14: 289-91.
  - Laws ER Jr, Sedlak VA, Miles JW, Romney-Joseph C, Lacomba JR, Diaz-Rivera A. (1968). Field study of the safety of Abate for treating potable water and observations on the effectiveness of a control programme involving both Abate and Malathion. Bull. World Health Org. 38:439–45.
  - Levinskas GJ, Shaffer CB (1970). Toxicity of Abate, a mosquito larvicide, and its sulfoxide. Toxicol Appl Pharmacol 1970; 17: 301-2.
  - Steinberg M, Cole MM, Miller TA, Godke RA (1972). Toxicological and entomological field evaluation of Mobam and Abate powders use as body louse toxicants (Anoplura: pediculidae). J Med Entomol 9:73–7.

### Appendix 1. NOAEL and LOAEL – Human and animal studies with Temephos

Route	Duration	Species	NOAEL	LOAEL	Organ/Effect	Comments	Reference
<b>Acute Duration Toxicity</b>							
dermal	unique	human	1.1 g/person		Signs of toxicity	Applied with a device used for topical treatment against lice. The conclusion is that this treatment does not present risks and is efficient	Steinberg et al. 1972
dermal	unique	rat (m)		>4,000 mg/kg	LD <sub>50</sub>	LD <sub>50</sub>	INCHEM 2002
dermal	unique	rat (f)		>4,000 mg/kg	LD <sub>50</sub>	LD <sub>50</sub>	INCHEM 2002
dermal	unique	dog		>5,000 mg/kg	LD <sub>50</sub>	LD <sub>50</sub>	EXTOXNET 2002
dermal	unique	cat		>5,000 mg/kg	LD <sub>50</sub>	LD <sub>50</sub>	EXTOXNET 2002
dermal	unique	rabbit		1,300 mg/kg	LD <sub>50</sub>	LD <sub>50</sub>	INCHEM 2002
dermal	5 days	rabbit		0.4 ml/kg/day (178 mg a.i./kg/day)	Cholinesterase inhibition; diarrhoea	Cholinesterase inhibition and diarrhoea	INCHEM 2002
oral	5 days	human	256 mg/day (~3.7 mg/kg/day)		Cholinesterase inhibition	No cholinesterase inhibition and no symptoms observed.	Laws et al. 1967
oral	unique	rat (m)		8,600 mg/kg	LD <sub>50</sub>	LD <sub>50</sub>	INCHEM 2002
oral	unique	rat (f)		1,300 mg/kg	LD <sub>50</sub>	LD <sub>50</sub>	INCHEM 2002
oral	unique	mouse		4,700 mg/kg	LD <sub>50</sub>	LD <sub>50</sub>	EXTOXNET 2002
oral	5 days	lapin		100 mg/kg/day	Liver	Focal and diffuse hepatic necrosis noted.	HSDB 2003
oral	5 days	guinea pig	100 mg/kg/day		OP poisoning	No pathological findings	INCHEM 2002

Route	Duration	Species	NOAEL	LOAEL	Organ/Effect	Comments	Reference
<b>Intermediate Duration Toxicity</b>							
dermal	3 weeks, 5days/wk	rat	12 mg/kg/day	60 mg/kg/day	Lesions; tissue changes; body weight	When applied dermally as aqueous emulsion, half of rats had abraded skin. Decreased weight gain noted in 60 mg/kg/day group (intact and abraded skin), but no other effects seen.	INCHEM 2002
oral	28 days	human	64 mg/day (~0.9 mg/kg/day)		Cholinesterase inhibition; clinical symptoms	No inhibition or symptoms observed.	Laws et al. 1967
oral	30 days	rabbit		10 mg/kg/day	Liver	Mild hepatic pathologic changes.	HSDB 2003
oral	44 day	rat	1 mg/kg/day	10 mg/kg/day	Erythrocyte cholinesterase inhibition	10 mg/kg/day resulted in 31% inhibition at 14 days and 47% at 44 days. No signs of organophosphate poisoning seen. Rats receiving 100 mg/kg/day showed signs of poisoning after 3 days (at 64% inhibition); gradual recovery from symptoms ensued, although inhibition progressed to 87% after 11 days.	Gaines et al. 1967
oral	35 days	rabbit	1 mg/kg/day	10 mg/kg/day	Cholinesterase inhibition; liver effects	No effects or significant inhibition were noted at 0.1 mg/kg/day or 1 mg/kg/day. The 10 mg/kg/day group developed 26% inhibition by day 7 and 47% inhibition by day 35. No animals showed signs of poisoning; no higher doses were used.	INCHEM 2002; HSDB 2003
oral	90 days	rat	6 ppm (0.3 mg/kg/day)	350 ppm (17.5 mg/kg/day)	Cholinesterase inhibition; clinical signs	Cholinesterase inhibition was the only effect noted.	INCHEM 2002; HSDB 2003
oral	35 days	rat	1 mg/kg/day		Cholinesterase inhibition	No cholinesterase inhibition was seen.	HSDB 2003
oral	186 days	sheep	5 mg/kg/day			No effects were noted.	HSDB 2003

Route	Duration	Species	NOAEL	LOAEL	Organ/Effect	Comments	Reference
oral	99 days	rat		2,000 ppm (~100 mg/kg/day)	Death, clinical signs, and erythrocyte cholinesterase inhibition	8 animals of 10 died within 10 days; 100% erythrocyte cholinesterase inhibition; signs of poisoning.	Hayes and Wayland, 1982
<b>Chronic Duration Toxicity</b>							
oral (in drinking water)	19 months	human	0.5 ppm		Cholinesterase inhibition; clinical symptoms	No inhibition or symptoms observed in village of 2,000 when water containers were treated once a month with temephos; 0.5 ppm estimated maximum dose.	Laws et al. 1968
oral	2 years	rat	300 ppm		Not specified	No effects were noted.	HSDB 2003
oral	422 days	sheep	2.5 mg/kg/day		Not specified	No effects were noted.	HSDB 2003
oral	1 year	cow		1 mg/kg/day	Not specified	“Signs of poisoning” were noted.	HSDB 2003
oral	2 years	rat	1 ppm	10 ppm	Liver effects	Minor pathologic changes noted in liver.	EXTOXNET 2002
<b>Developmental/Reproductive Toxicity</b>							
oral (in drinking water)	19 months	human	0.5 ppm		Cholinesterase inhibition; clinical symptoms; reproduction	No symptoms observed in village of 2,000 when water containers were treated once a month with temephos; 0.5 ppm estimated max. dose. Eight normal births were observed.	Laws et al. 1968
oral  (diet)	3 generations	rat	125 ppm		Fertility, gestation, reproduction, lactation, congenital defects	No effects were noted. Dietary exposure continued from weaning through reproductive age.	HSDB 2003
oral	unspecified	rat		500 ppm (25 mg/kg/day)	Number of litters and size, viability, congenital defects, cholinesterase; signs of toxicity	No developmental or reproductive effects were noted, but some cholinesterase inhibition and toxicity were seen.	EXTOXNET 2002; HSDB 2003
oral	1 year	cow		1 mg/kg/d	Fertility.	Evidence indicated that it may affect the fertility in heifers	HSDB 2003



# TEMEPHOS

## exposure evaluation and risk assessment

DATE

**mars 2006**

---

**1 INTRODUCTION:**

Temephos will be applied for larval control of mosquitoes. The application equipment used for these applications is close to the one used for pesticide application. For this reason, models derived from agricultural technology will be used.

The following models will be used:

**UK POEM:**

This model is derived from studies conducted in UK in the early 80<sup>th</sup>. These were mainly non-GLP studies and the raw data are no more available. This model is considered as very conservative. However, as it is a recognised model in the EU, these results will be presented when it is relevant for one of the uses.

**BBA Model:**

This model is derived from studies conducted in Germany in the 80<sup>th</sup>. These were mainly non-GLP studies and the raw data are available. This model is considered as moderately conservative. However, as it is a recognised model in the EU, these results will be presented when it is relevant for one of the uses.

**EUROPOEM II:**

This model has been built by a team of academics, regulators and industry under an EU contract. The model comprises the results of 78 studies which were available to the group. The results, as presented at the end of the contract, have been considered by the Commission as too variable to be easily usable by regulators. However, these data are available at the following address: <http://europoem.csl.gov.uk/> and it is useful when results have to be refined or when it is the only source of exposure data for an use.

**PHED V 1.1 February 1995.**

This model has been built by North American regulatory agencies and industry. The model comprises about 1800 replicates for very different types of uses. This model is currently used in North American and some of the uses modelled are relevant for use in other countries.

For each use, all relevant models will be presented. As some are clearly more conservative than others, all the results will be discussed before concluding.

---

**1 SCENARIO 1: 1% GRANULES APPLIED WITH A SPOON**

These are 1% granules applied at the dose of 125 g a.i./ha equivalent to 12.5 kg product/hectare.

There is no model available for this type of application.

Considering the reference NOAEL of 0.3 mg/kg bw/day, an acceptable MOS of 30X and a dermal penetration of 50%, this represents, for a 70 kg worker an acceptable skin contamination of 1.4 mg a.i. on the skin equivalent to 140 mg of formulation.

Although extremely variable it can be estimated that the maximum adherence of soil to skin in an adult is 0.4 mg/cm<sup>25</sup>. An amount of 140 mg would then represent the maximum amount retained on 350 cm<sup>2</sup> of skin, i.e. two third of the area of the hand applying the product.

This looks highly improbable and this use is expected to be safe.

## 2 SCENARIO 2: PRE-PRESSURED HAND HELD EQUIPMENT (5 L)

There is no available model for 5 L pre-pressure hand held sprayer. The knapsack model will then be used.

Application parameters are as follows:

Application rate: 125 g a.i. /ha

Application volume: 15 L/ha (which corresponds to spot treatment)

Estimated size of the tank: 5 L

Speed: 2-3 km/hour

Area treated /day: 3 hectares

a.i. handled/day: 0.75 kg

Evaluation will be performed with UK POEM and BBA models.

*UK POEM (details in Annex I)*

Total dose absorbed	No protection	Gloves ML	Gloves & Coverall ML and Applic.	
<b>Dermal Exposure</b>				
Mixing/loading	22.50000	2.25000	2.25000	mg/day
Application	425.00000	425.00000	40.00000	mg/day
Total dose	447.50000	427.25000	42.25000	mg/day
<b>Inhalation</b>				
	1.00000	1.00000	1.00000	mg/day
<b>Total dose absorbed</b>	<b>448.50000</b>	<b>428.25000</b>	<b>43.25000</b>	mg/day
<b>Total absorbed dose in mg/kg for 70 kg</b>	<b>6.41</b>	<b>6.12</b>	<b>0.62</b>	mg/kg
<b>MOS</b>	<b>0.0468</b>	<b>0.0490</b>	<b>0.4855</b>	bw./day

*BBA model (details in Annex II)*

Total absorbed dose	No protection	Gloves M/L	Gloves M/L & Applic.	Gloves M/L & Applic. & Cover.	
<b>Dermal exposure</b>					
Mixing/loading	39.21	0.39	0.39	0.39	mg/pers./day
Application	7.73	7.73	5.72	1.18	mg/pers./day
Total dose	46.93	8.12	6.11	1.57	mg/pers./day
<b>Inhalation</b>					
Mixing/loading	0.02	0.02	0.02	0.02	mg/pers./day
Application	0.11	0.11	0.11	0.11	mg/pers./day
Total dose	0.13	0.13	0.13	0.13	mg/pers./day
<b>Total absorbed dose</b>	<b>47.07</b>	<b>8.25</b>	<b>6.25</b>	<b>1.70</b>	mg/pers./day
<b>Total absorbed dose in mg/kg for 70 kg</b>	<b>0.67</b>	<b>0.12</b>	<b>0.09</b>	<b>0.02</b>	mg/kg bw./day
<b>MOS</b>	<b>0.45</b>	<b>2.54</b>	<b>3.36</b>	<b>12.33</b>	

---

## 2.1 CONCLUSIONS FOR SCENARIO 2:

---

There is presently no publicly available model for 5 L tanks pre-pressure hand equipment. Knapsack is probably the closest model although contamination occurring on the back with knapsack is unlikely to occur with 5 L tanks pre-pressure hand equipment.

Exposure evaluation using POEM or BBA models, even with coverall and gloves is unacceptable with MOS of less than 1 with UK POEM and reaching one third of the RefMOS with BBA Model.

Adding Respiratory Protection Equipment (RPE) or an additional layer on the body will not change significantly the results.

There is not enough data in PHED to refine the assessment.

### 3 SCÉNARIO 3: AIR ASSISTED SPRAY ON QUAD-BIKE OR CATERPILLAR WITHOUT CAB

There is no publicly available model for these uses. The orchard model will be used. As the equipment used to generate the model is significantly larger than in the intended use, the model may not be enough conservative.

Application parameters are as follows:

Application rate: 125 g a.i. /ha

Application volume: 2.5 à 3.5 L/ha

Estimated size of the tank: 50 L

Speed: 6-8 km/hour

Area treated /day: 20 hectares

a.i. handled/day: 2.5 kg

Evaluation will be performed with UK POEM, BBA and PHED models.

*POEM (details in Annex III)*

Total dose absorbed	No protection	Gloves ML	Gloves & Coverall ML and Applic.	
<i>Dermal Exposure</i>				
Mixing/loading	12.50	1.25	1.25	mg/day
Application	1010.00	1010.00	28.19	mg/day
Total dose	1022.50	1011.25	29.44	mg/day
<i>Inhalation</i>				
	6.00	6.00	6.00	mg/day
<b>Total dose absorbed</b>	<b>1028.50</b>	<b>1017.25</b>	<b>35.44</b>	mg/day
<b>Total absorbed dose in mg/kg for 70 kg</b>	<b>14.69</b>	<b>14.53</b>	<b>0.51</b>	mg/kg bw./day
<b>MOS</b>	<b>0.0204</b>	<b>0.0206</b>	<b>0.5926</b>	

*BBA model (details in Annex IV)*

Total absorbed dose	No protection	Gloves M/L	Gloves M/L & Applic.	Gloves M/L & Applic.&Cover.	
<i>Dermal exposure</i>					
Mixing/loading	3.00000	0.03000	0.03000	0.03000	mg/pers./day
Application	14.37500	14.37500	13.50875	2.10875	mg/pers./day
Total dose	17.37500	14.40500	13.53875	2.13875	mg/pers./day
<i>Inhalation</i>					
Mixing/loading	0.00150	0.00150	0.00150	0.00150	mg/pers./day
Application	0.04500	0.04500	0.04500	0.04500	mg/pers./day
Total dose	0.04650	0.04650	0.04650	0.04650	mg/pers./day
<b>Total absorbed dose</b>	<b>17.42150</b>	<b>14.45150</b>	<b>13.58525</b>	<b>2.18525</b>	mg/pers./day
<b>Total absorbed dose in mg/kg for 70 kg</b>	<b>0.25</b>	<b>0.21</b>	<b>0.19</b>	<b>0.03</b>	mg/kg bw./day
<b>MOS</b>	<b>1.21</b>	<b>1.45</b>	<b>1.55</b>	<b>9.61</b>	

PHED (details in Annex V)

Per Kg a.i.

Total absorbed dose	No gloves	Gloves M/L	Gloves M/L & Applic.	Gloves M/L & Applic.&Cover.	
<b>Dermal exposure</b>					
Mixing/loading	9.52500	0.05760	0.05760	0.05760	mg/pers./day
Application	0.89400	0.89400	0.66300	0.64300	mg/pers./day
Total dose	10.41900	0.95160	0.72060	0.70060	mg/pers./day
<b>Inhalation</b>					
Mixing/loading	0.00040	0.00040	0.00040	0.00040	mg/pers./day
Application	0.00670	0.00670	0.00670	0.00670	mg/pers./day
Total dose	0.00710	0.00710	0.00710	0.00710	mg/pers./day
<b>Total absorbed dose/kg a.i.</b>	<b>5.21660</b>	<b>0.48290</b>	<b>0.36740</b>	<b>0.35740</b>	mg/pers./day
<b>Total absorbed dose/day</b>	<b>3.91245</b>	<b>0.36218</b>	<b>0.27555</b>	<b>0.26805</b>	mg/pers./day
<b>Total absorbed dose in mg/kg for 70 kg</b>	<b>0.06</b>	<b>0.01</b>	<b>0.00</b>	<b>0.00</b>	mg/kg bw./day
<b>MOS</b>	<b>5.37</b>	<b>57.98</b>	<b>76.21</b>	<b>78.34</b>	

## CONCLUSION FOR AIRBLAST APPLICATION:

There is presently no publicly available model for small airblast equipment without cab.

Airblast orchard is probably the closest model as in both cases application is made using air assisted spray. However there are difference between usual orchard treatment equipment and the one proposed for Temephos application:

- the equipment for Temephos is much smaller than the one used in the model which should underestimate exposure
- the equipment used for Temephos is much more directed than the one used normally for orchard which should overestimate exposure.

None of the scenarios is acceptable using POEM or BBA models.

Using PHED, results (at geometric mean) are acceptable with gloves during preparation and application.

Results should be interpreted with caution with regards to the limited relevance of the model.

#### 4 SCENARIO 4: NON AIR ASSISTED SPRAY MOUNTED ON A 4WD PICK-UP. HIGH OR LOW PRESSURE.

There is no publicly available model for these uses.

A model based on lance and pistol spray will be used from EUROPOEM II

Low and high pressure hand wand will be selected from PHED.

With models, low and high pressure applications are combined as exposure in the two datasets appears similar in the PHED database and cannot be easily separated in EUROPOEM II.

All these data have been generated with people applying from the ground where there were more likely to be in contact with the treated plants. For this reason, the model is expected to be conservative. On the other hand, droplet size is expected to be in the same range.

Application parameters are as follows:

Application rate: 125 g a.i. /ha

Application volume: 100 L/ha

Estimated size of the tank: 200 L

Speed: 5-15 km/hour

Area treated /day: 5 hectares

a.i. handled/day: 0.625 kg

Evaluation will be performed with PHED and EUROPOEM II models.

*PHED (details in Annex VI)*

Per Kg a.i.

Total absorbed dose	No gloves	Gloves M/L	Gloves M/L & Applic.	Gloves M/L & Applic.&Cover.	
<b><i>Dermal exposure</i></b>					
Mixing/loading					mg/pers./day
Application					mg/pers./day
Total dose	225.00000		1.14000	0.72000	mg/pers./day
<b><i>Inhalation</i></b>					
Mixing/loading					mg/pers./day
Application					mg/pers./day
Total dose	0.04600		0.04600	0.04600	mg/pers./day
<b>Total absorbed dose/kg a.i.</b>	<b>112.54600</b>		<b>0.61600</b>	<b>0.40600</b>	mg/pers./day
<b>Total absorbed dose/day</b>	<b>281.36500</b>		<b>1.54000</b>	<b>1.01500</b>	mg/pers./day
<b>Total absorbed dose in mg/kg for 70 kg</b>	<b>4.02</b>		<b>0.02</b>	<b>0.01</b>	mg/kg bw./day
<b>MOS</b>	<b>0.07</b>		<b>13.64</b>	<b>20.69</b>	

*EUROPOEM II (details in Annex VII)*

Total absorbed dose	No gloves	Gloves M/L	Gloves M/L & Applic.	Gloves M/L & Applic.&Cover.	
<b>Dermal exposure</b>					
Mixing/loading	10.02	0.04	0.04	0.04	mg/pers./day
Application	30.72	30.72	17.93	17.93	mg/pers./day
Total dose	41	31	18	18	mg/pers./day
<b>Inhalation</b>					
Mixing/loading	0.00	0.00	0.00	0.00	mg/pers./day
Application	0.07	0.07	0.07	0.07	mg/pers./day
Total dose	0	0	0	0	mg/pers./day
<b>Total absorbed dose/kg a.i.</b>	<b>20</b>	<b>15</b>	<b>9</b>	<b>9</b>	mg/pers./day
<b>Total absorbed dose/day</b>	<b>51</b>	<b>39</b>	<b>23</b>	<b>23</b>	mg/pers./day
<b>Total absorbed dose in mg/kg for 70 kg</b>	<b>0.73</b>	<b>0.55</b>	<b>0.32</b>	<b>0.32</b>	mg/kg bw./day
<b>MOS</b>	<b>0.41</b>	<b>0.54</b>	<b>0.93</b>	<b>0.93</b>	

**4.1 CONCLUSION:**

There is presently no publicly available model for non air assisted spray mounted on a vehicle..

Application using hand wand equipment is probably the closest model as in both cases application is made using either a spray gun or a lance on a hose connected to a spray tank. . However there are differences between these two methods of application:

- In the case of Temephos there may be general contamination of the area of the van where operator stays which should underestimate exposure
- On the other hand the operator won't be in contact with the directly treated plants which should overestimate exposure.

This scenario far to be acceptable with EUROPOEM II and is close to be acceptable with PHED and PPE during M/L and application.

Results should be interpreted with caution with regards to the limited relevance of the model.

## 5 SCENARIO 5: AERIAL APPLICATION

The only available model for this uses is in PHED.

Application parameters are as follows:

Application rate: 125 g a.i. /ha

Application volume: 1.5 to 2.5 L/ha

Estimated size of the tank: 800 to 1500 L

Speed: 160 km/hour

Area treated /day: 400 hectares

a.i. handled/day: 50 kg

As Mixer/loader and applicator (pilot) are unlikely to be the same person, they will be evaluated separately.

Evaluation will be performed with PHED models the pilot.

No suitable model exists for mixing loading of planes unless there is a premix tank. In this case, POEM or BBA model could be considered suitable but:

- this situation is very unlikely as it supposes fixed setting
- this will lead to extremely high calculated exposure.

*PHED: (details in Annex VIII)*

Per Kg a.i.

Total absorbed dose	No gloves	Gloves M/L	Gloves M/L & Applic.	Gloves M/L & Applic.&Cover.	
<b><i>Dermal exposure</i></b>					
Mixing/loading					mg/pers./day
Application	0.00730			0.64300	mg/pers./day
Total dose	0.00730			0.00760	mg/pers./day
<b><i>Inhalation</i></b>					
Mixing/loading					mg/pers./day
Application	0.00008			0.00008	mg/pers./day
Total dose	0.00008			0.00008	mg/pers./day
<b>Total absorbed dose/kg a.i.</b>	<b>0.00373</b>			<b>0.00388</b>	mg/pers./day
<b>Total absorbed dose/day</b>	<b>0.18635</b>			<b>0.19385</b>	mg/pers./day
<b>Total absorbed dose in mg/kg for 70 kg</b>	<b>0.00</b>			<b>0.00</b>	mg/kg bw./day
<b>MOS</b>	<b>112.69</b>			<b>108.33</b>	

### 5.1 CONCLUSION FOR AERIAL APPLICATION

Exposure of the mixer/loader cannot be assessed properly  
Exposure to the pilot is acceptable even without protection.

---

## 6 SCENARIO 6: BYSTANDER EXPOSURE

---

### 6.1 GRANULES APPLIED WITH A SPOON

---

No bystander exposure is expected during granule application.

### 6.2 PRE-PRESSURED HAND HELD EQUIPMENT (5 L)

---

The size of the droplets delivered by a pre-pressure hand held sprayer is too high to be inhaled and droplets fall on the ground very close from the emission point. A few seconds after application, no droplets remain in the air. Therefore, even when application is performed close to inhabited areas, the risk for bystander is negligible.

### 6.3 AIR ASSISTED SPRAY ON QUAD-BIKE OR CATERPILLAR WITHOUT CAB

---

The drift occurring during application with such equipment may be similar to this measured during vineyard treatment. For the worst case data (Rautmann, 2001<sup>6</sup>) on the drift from application with groundboom show that at 10 m (at distance to represent a bystander outside the boundary of a treated area) the levels of drift deposits are 0.3% or less of the applied dose (90<sup>th</sup> percentile). For application on vineyard (Rautmann, 2001), the level of drift deposit at 10 m corresponds to 1.23% of the applied dose. According to this extrapolation, it is considered that contamination during application on vineyard is 4.1 folds higher than during application with tractor mounted boom with hydraulic nozzles. If the exposure of a bystander compared to an operator is proportional to the duration of exposure and to the amount of airborne material it is unlikely that exposure of bystanders outside the treatment area will exceed the AOEL.

Further support to this conclusion come from direct measurements of bystander exposure made in the UK for boom spray applications (Lloyd and Bell, 1983): in a typical case following a single pass of the sprayer mean potential dermal exposure (PDE) was measured as 0.1 mL of spray on a bystander positioned at 8 m from the edge of the treatment area. Typical mean potential inhalation exposure was measured as 0.02 mL spray/m<sup>3</sup>. Maximum values were about five times these mean values. When extrapolating these values of dermal and inhalation contamination to vineyard and considering the 4.1 higher exposure assessed in the study of Rautmann (2001), it can be considered that for vineyard, PDE will be 0.41 ml spray. The contamination by inhalation will be 0.082 ml spray/m<sup>3</sup>.

For temephos, it is assumed that:

- 1) NOEL = 0.3 mg/kg/day;
- 2) a maximal spray concentration of 50 mg temephos/ml;

---

<sup>6</sup> Rautmann, D., Strelake, M., Winkler, R. (2001) New basic drift values in the authorization procedure for plant protection products. In: Forster, R.; Strelake, M. (eds): Workshop on risk assessment and risk mitigation measures in the context of authorization of plant protection (WORMM): 27. -29. September 1999. Organised by Federal Biological Research Centre for Agriculture and Forestry, Biology Division, Braunschweig, Germany. Berlin: Parey. Mitt. Biol. Bundesanst. Land- Forstwirtsch. 383, 133 - 141. Published

- 3) an actual dermal exposure (ADE) equal to 50 % (oral AOEL) of the potential dermal exposure (PDE);
- 4) a 100 % absorption and retention of potential inhalation exposure;
- 5) a respiratory rate of 20 L/min (1.2 m<sup>3</sup>/hour),
- 6) an exposure duration of 5 minutes,
- 7) a body weight of 70 kg.

The following exposures can be predicted :

\* Dermal exposure:

$$0.41 \text{ mL/day} \times 50 \text{ mg/mL} = 20.5 \text{ mg/day}$$

equivalent to 0.293 mg/kg/day

\* Inhalation exposure:

$$1.2 \text{ m}^3 \times 5 \text{ min} / 60 \text{ min} \times 0.082 \text{ mL/m}^3/\text{day} \times 50 \text{ mg/mL} = 0.41 \text{ mg/day}$$

equivalent to 0.0059 mg/kg/day

# With internal AOEL, dermal absorbed = dermal contamination x 50 %

	Dermal absorbed	Inhalation	Total dose absorbed
Dose (mg/kg bw/day)	0.1465	0.0059	0.152
<b>MOS (internal NOEL)</b>			<b>2</b>

This figure is probably extremely pessimistic as the number have been derived from application methods using around 400L/hectare, i.e. a spray volume close to 100 times higher while in both cases, the droplet size is expected to be in the same range. The real exposure is then expected to be significantly lower but the available data are not sufficient to indicate by which factor the exposure should be decreased.

#### 6.4 NON AIR ASSISTED SPRAY MOUNTED ON A 4WD PICK-UP – HIGH OR LOW PRESSURE

The drift occurring during application with such equipment may be similar to this measured during cereals field treatment (see point 1.3 above).

With a maximal spray concentration of 1.25 g/L, the following exposures can be predicted :

\* Dermal exposure:

$$0.1 \text{ mL/day} \times 1.25 \text{ mg/mL} = 0.0125 \text{ mg/day}$$

equivalent to 0.001785 mg/kg/day

\* Inhalation exposure:

$$3.6 \text{ m}^3 \times 5 \text{ min} / 60 \text{ min} \times 0.02 \text{ mL/m}^3/\text{day} \times 1.25 \text{ mg/mL} = 0.00075 \text{ mg/day}$$

equivalent to 0.000107 mg/kg/day

# With internal AOEL, dermal absorbed = dermal contamination x 50 %

	Dermal absorbed	Inhalation	Total dose absorbed
Dose (mg/kg bw/day)	0.000892	0.0000107	0.000999
<b>MOS (internal NOEL)</b>			<b>300</b>

#### 6.5 AERIAL APPLICATION

---

Using the worse case where the person is directly exposed under the plane.

For inhalation exposure, a worse case calculation can be done with the hypothesis that the plane flies at 10 m above the ground and that the concentration is stable and evenly distributed in this volume during the time the person is exposed, In this case, an application rate of 125 g/ha gives a concentration in the air respired by the person of 12.5 mg/10 m<sup>3</sup> and a dermal exposure of 12.5 mg/day. With a flow rate of 20 L/min for a bystander of 70 kg and an exposure duration of 5 minutes, 12.5 µg of temephos may be inhaled (worst case with the hypothesis that all the droplets are small enough to be inhaled).

If this person is sprayed on one face (about 1 m<sup>2</sup>) at the target rate, the skin exposure will be 12.5 mg equivalent to an internal dose of 0.044 mg/kg bw/day for a bystander weighing 70 kg when considering 50% protection by clothes and 50% dermal penetration.

Total internal exposure is:  $(0.044) + 0.0125 = 0.0565$  mg/kg bw/day

Therefore, the **MOS is 5.1**.

These hypotheses are very conservative as:

- Target droplet size in 200 µm which is not inhalable due to a very rapid fall (>1 m/s) and concentration will also decrease very rapidly. Inhalation can then occur only from the lowest droplet size tail which should only represent a very small fraction.
- A m<sup>2</sup> of skin exposure implies that the person is lying on the ground or exposure due to a significant wind.

The real exposure is then probably acceptable but no data are available to precisely refine exposure.

## 7 OVERALL CONCLUSION

The following conclusions can be drawn for operator using the maximum precautions (MOS>30 are considered acceptable):

*MOS according to the scenario and the model used with the maximum precautions:*

Scenario	POEM	BBA	EURO POEM II	PHED
Granules applied with a Spoon	No model	No model	No model	No model
Pre-Pressure Hand Held	0.62	12.3	No model	No model
Air Assisted Spray	0.6	9.6	No model	78.34
Non Air assisted Spray	No model	No model	0.93	20.7
Aerial Application	No model	No model	No model	108.3

The use of risk mitigation measures for occupational handlers (i.e., maximum PPE and engineering controls) results in **MOS greater than the RefMOS of 30 with at least one model** for the following scenarios:

- Air Assisted Spray on quad bike or caterpillar without cab.
- Aerial application

The use of risk mitigation measures form occupational handlers (i.e., maximum PPE and engineering controls) results in **MOS less than the RefMOS of 30 whatever the model used** for the following scenarios:

- Pre-pressure hand held equipment with 5L tank.
- Non air assisted Spray monted on a 4WD pick-up.

The use of risk mitigation measures form occupational handlers (i.e., maximum PPE and engineering controls) could not be evaluated for the following scenario:

- Granules with a spoon.

For re-entry exposure, there is probably no exposure with granule and when the product is applied using pre-pressure hand held equipment with 5L tank.

Exposure when using non air assisted Spray mounted on a 4WD pick-up is considered as acceptable.

When using air Assisted Spray on quad bike or caterpillar, the models gives unacceptable exposure but this is mainly due to the use of a very conservative model.

Exposure by direct spray during aerial application is expected to be borderline, then exposure due to simple drift should be acceptable.

**ANNEX I: PRE-PRESSURED HAND HELD EQUIPMENT: POEM**

Data relative to Product					
Name	Temephos				
Active Substance	Temephos				
a.s. Concentration s.a. in formulation	500.000				mg/ml
Formulation Type	EC				
Solvent concentration					
Spray concentration	8.333				g/l
Dose a.s./ha	125.000				g/ha
Spray volume applied/ha	15.000				l/ha
Dermal exposure during Mixing/loading					
Container size	1				l
Hand Contamination /operation	0.010				ml/op
Formulation application rate	0.255				l/ha
Area treated/day	3.0				ha/day
Number of operations/day	9	9	op./day		
Hand contamination /day	0.090	0.090	ml/day		
Protection	None	Gloves			
Transmission to skin	100	10	%		
Dermal exposure	0.090	0.009	ml/day		
Active substance concentration	500.000	500.000	mg/ml		
Dermal exposure to active substance	45.000	4.500	mg/day		
Skin penetration	50.00	50.00	%		
Dermal absorbed dose	22.5000	2.2500	mg/day		
Dermal exposure during application					
Application Technic					
Spray Volume	15.000				l/ha
Contamination Volume	50.000				ml/h
Distribution	Hands	Hands	Trunk	Legs	%
	25	25	25	50	
Protection	None	Gloves	prot clothes	prot clothes	
Transmission to skin	100	10	1	0.9	%
Dermal exposure	10.000	1.250	0.125	0.225	ml/h
Exposure Duration	6				h
Protective Measures	None	Gloves & prot clothes			
Total dermal exposure during application	102.000	9.600	ml/day		
Active Substance Concentration	8.333	8.333	mg/ml		
Dermal exposure to active substance	850.000	80.000	mg/day		
Skin penetration	50.00	50.0	%		
Absorbed Dose by Dermal Exposure	425.000	40.000	mg/day		
Exposure by inhalation during application					
Exposure to formulation (inhalation)	0.020				ml/h
Exposure Duration	6				h
Concentration to Active Substance	8.333				mg/ml
Exposure to Active Substance (inhalation)	1.000				mg/day
Absorption (%)	100				%
Absorbed Dose (inhalation)	1.000				mg/day
Total dose absorbed	No	Gloves	Gloves & Coverall ML		
	protection	ML	and Applic.		
Dermal Exposure					mg/day
Mixing/loading	22.50000	2.25000	2.25000		
Application	425.00000	425.00000	40.00000		
Total dose	447.50000	427.25000	42.25000		mg/day
Inhalation	1.00000	1.00000	1.00000		mg/day
Total dose absorbed	448.50000	428.25000	43.25000		mg/day
Total absorbed dose in mg/kg for 70 kg	6.41	6.12	0.62		mg/kg bw./day
MOS	0.0468	0.0490	0.4855		

**ANNEX II: PRE-PRESSURED HAND HELD EQUIPMENT: BBA MODEL**

<b>Product</b>	<b>Temephos</b>		
Active Substance active (a.s.)	<b>Temephos</b>		
Formulation	EC		
Concentration a.s. in formulation	500.000	g/l	
Application rate	0.255	l/ha	
Area treated	3	ha/day	
A.s. handled	0.383	kg/day	
<b>Mixing/loading (M/L)</b>	<b>No protection</b>	<b>Gloves</b>	
<i>Inhalation exposure</i>			
Generic Exposure	0.05	0.05	mg/kg s.a./day
Exposure to a.s. handled	0.01913	0.01913	mg/pers./day
Absorption	100	100	%
Absorbed dose	0.01913	0.01913	mg/pers./day
<i>Dermal exposure (hands)</i>			
Generic Exposure	205.00	205.00	mg/kg s.a./day
Transfer to skin	100	1	%
Exposure to a.s. handled	78.41250	0.78413	mg/pers./day
Skin penetration	50.00	50.00	%
Absorbed dose	39.20625	0.39206	mg/pers./day
<b>Total absorbed dose</b>	<b>39.22538</b>	<b>0.41119</b>	mg/pers./day
<b>Application (Applic.)</b>	<b>No protection</b>	<b>Gloves</b>	<b>Gloves&amp;Cover</b>
<i>Inhalation exposure</i>			
Generic Exposure	0.300	0.300	0.300
Exposure to a.s. handled	0.11475	0.11475	0.11475
Absorption	100	100	100
Absorbed dose	0.11475	0.11475	0.11475
<i>Dermal exposure (head)</i>			
Generic Exposure	4.80	4.80	4.80
Transfer to skin	100	100	100
Exposure to a.s. handled	1.83600	1.83600	1.83600
Skin penetration	50.00	50.00	50.00
Absorbed dose	0.91800	0.91800	0.91800
<i>Dermal exposure (hands)</i>			
Generic Exposure	10.60	10.60	10.60
Transfer to skin	100	1	1
Exposure to a.s. handled	4.05450	0.04055	0.04055
Skin penetration	50.00	50.00	50.00
Absorbed dose	2.02725	0.02027	0.02027
<i>Dermal exposure (body)</i>			
Generic Exposure	25.00	25.00	25.00
Transfer to skin	100	100	5
Exposure to a.s. handled	9.56250	9.56250	0.47813
Skin penetration	50.00	50.00	50.00
Absorbed dose	4.78125	4.78125	0.23906
<b>Total absorbed dose</b>	<b>7.84125</b>	<b>5.83427</b>	<b>1.29209</b>

Total absorbed dose	No protection	Gloves M/L	Gloves M/L & Applic.	Gloves M/L & Applic.&Cover.	
<b><i>Dermal exposure</i></b>					
Mixing/loading	39.21	0.39	0.39	0.39	mg/pers./day
Application	7.73	7.73	5.72	1.18	mg/pers./day
Total dose	46.93	8.12	6.11	1.57	mg/pers./day
<b><i>Inhalation</i></b>					
Mixing/loading	0.02	0.02	0.02	0.02	mg/pers./day
Application	0.11	0.11	0.11	0.11	mg/pers./day
Total dose	0.13	0.13	0.13	0.13	mg/pers./day
<b>Total absorbed dose</b>	<b>47.07</b>	<b>8.25</b>	<b>6.25</b>	<b>1.70</b>	mg/pers./day
<b>Total absorbed dose in mg/kg for 70 kg</b>	<b>0.67</b>	<b>0.12</b>	<b>0.09</b>	<b>0.02</b>	mg/kg bw./day
<b>MOS</b>	<b>0.45</b>	<b>2.54</b>	<b>3.36</b>	<b>12.33</b>	

### ANNEX III: AIR ASSISTED SPRAY ON QUAD-BIKE OR CATERPILLAR WITHOUT CAB (POEM)

Data relative to Product	Temephos		Europe		
Name	Temephos		Pome fruit		
Active Substance	Temephos				
a.s. Concentration s.a. in formulation	500.000				mg/ml
Formulation Type	EC				
Main solvent					
Solvent concentration					
Spray concentration	50.000				g/l
Dose a.s./ha	125.000				g/ha
Spray volume applied/ha	2.500				l/ha
<b>Dermal exposure during Mixing/loading</b>					
Container size	1				l
Hand Contamination /operation	0.010				g/op.
Formulation application rate	0.250				l/ha
Area treated/day	20				ha/day
Number of operations/day	5	5			op./day
Hand contamination /day	0.050	0.050			g/day
Protection	None	Gloves			
Transmission to skin	100	10			%
Dermal exposure	0.050	0.005			g/day
Active substance concentration	500.000	500.000			mg/ml
Dermal exposure to active substance	25.000	2.500			mg/day
Skin penetration	50.00	50.00			%
<b>Dermal absorbed dose</b>	<b>12.5000</b>	<b>1.2500</b>			<b>mg/day</b>
<b>Dermal exposure during application</b>					
Application Technic					
Spray Volume	2.500				l/ha
Contamination Volume	50				ml/h
	Hands	Hands	Trunk	Legs	
Distribution	10	10	65	25	%
Protection	None	Gloves	prot clothes	prot clothes	
Transmission to skin	100	10	0.1	0.25	%
Dermal exposure	5.000	0.500	0.033	0.031	ml/h
Exposure Duration	2				h
		<b>Gloves &amp; prot clothes</b>			
<b>Protective Measures</b>	<b>None</b>				
Total dermal exposure during application	40.400	1.128			ml/day
Active Substance Concentration	50.000	50.000			mg/ml
Dermal exposure to active substance	2020.000	56.375			mg/day
Skin penetration	50.00	50.0			%
<b>Absorbed Dose by Dermal Exposure</b>	<b>1010.000</b>	<b>28.188</b>			<b>mg/day</b>
<b>Exposure by inhalation during application</b>					
Exposure to formulation (inhalation)	0.020				ml/h
Exposure Duration	6				h
Concentration to Active Substance	50.000				mg/ml
Exposure to Active Substance (inhalation)	6.000				mg/day
Absorption (%)	100				%
<b>Absorbed Dose (inhalation)</b>	<b>6.000</b>				<b>mg/day</b>

Total dose absorbed	No protection	Gloves ML	Gloves & Coverall ML and Applic.	
<i>Dermal Exposure</i>				
Mixing/loading	12.50	1.25	1.25	mg/day
Application	1010.00	1010.00	28.19	mg/day
Total dose	1022.50	1011.25	29.44	mg/day
<i>Inhalation</i>				
	6.00	6.00	6.00	mg/day
<b>Total dose absorbed</b>	<b>1028.50</b>	<b>1017.25</b>	<b>35.44</b>	mg/day
<b>Total absorbed dose in mg/kg for 70 kg</b>	<b>14.69</b>	<b>14.53</b>	<b>0.51</b>	mg/kg
<b>MOS</b>	<b>0.0204</b>	<b>0.0206</b>	<b>0.5926</b>	bw./day

**ANNEX IV: AIR ASSISTED SPRAY ON QUAD-BIKE OR CATERPILLAR WITHOUT CAB (BBA)**

<b>Product</b>	<b>Temephos</b>		
Active Substance active (a.s.)	<b>Temephos</b>		
Formulation	<b>EC</b>		
Concentration a.s. in formulation	<b>500.000</b>	<i>g/l</i>	
Application rate	<b>0.250</b>	<i>l/ha</i>	
Area treated	<b>20</b>	<i>ha/day</i>	
A.s. handled	<b>2.500</b>	<i>kg/day</i>	
<b>Mixing/loading (M/L)</b>	<b>No protection</b>	<b>Gloves</b>	
<i>Inhalation exposure</i>			
Generic Exposure	<b>0.0006</b>	<b>0.0006</b>	<i>mg/kg s.a./day</i>
Exposure to a.s. handled	0.00150	0.00150	<i>mg/pers./day</i>
Absorption	100	100	<i>%</i>
Absorbed dose	0.00150	0.00150	<i>mg/pers./day</i>
<i>Dermal exposure (hands)</i>			
Generic Exposure	<b>2.40</b>	<b>2.40</b>	<i>mg/kg s.a./day</i>
Transfer to skin	100	1	<i>%</i>
Exposure to a.s. handled	6.00000	0.06000	<i>mg/pers./day</i>
Skin penetration	<b>50.00</b>	<b>50.00</b>	<i>%</i>
Absorbed dose	3.00000	0.03000	<i>mg/pers./day</i>
<b>Total absorbed dose</b>	<b>3.00150</b>	<b>0.03150</b>	<i>mg/pers./day</i>
<b>Application (Applic.)</b>	<b>No protection</b>	<b>Gloves</b>	<b>Gloves&amp;Cover</b>
<i>Inhalation exposure</i>			
Generic Exposure	<b>0.018</b>	<b>0.018</b>	<b>0.018</b>
Exposure to a.s. handled	0.04500	0.04500	0.04500
Absorption	100	100	100
Absorbed dose	0.04500	0.04500	0.04500
<i>Dermal exposure (head)</i>			
Generic Exposure	<b>1.20</b>	<b>1.20</b>	<b>1.20</b>
Transfer to skin	100	100	100
Exposure to a.s. handled	3.00000	3.00000	3.00000
Skin penetration	<b>50.00</b>	<b>50.00</b>	<b>50.00</b>
Absorbed dose	1.50000	1.50000	1.50000
<i>Dermal exposure (hands)</i>			
Generic Exposure	<b>0.70</b>	<b>0.70</b>	<b>0.70</b>
Transfer to skin	100	1	1
Exposure to a.s. handled	1.75000	0.01750	0.01750
Skin penetration	<b>50.00</b>	<b>50.00</b>	<b>50.00</b>
Absorbed dose	0.87500	0.00875	0.00875
<i>Dermal exposure (body)</i>			
Generic Exposure	<b>9.60</b>	<b>9.60</b>	<b>9.60</b>
Transfer to skin	100	100	5
Exposure to a.s. handled	24.00000	24.00000	1.20000
Skin penetration	<b>50.00</b>	<b>50.00</b>	<b>50.00</b>
Absorbed dose	12.00000	12.00000	0.60000
<b>Total absorbed dose</b>	<b>14.42000</b>	<b>13.55375</b>	<b>2.15375</b>

Total absorbed dose	No protection	Gloves M/L	Gloves M/L & Applic.	Gloves M/L & Applic.&Cover.	
<b><i>Dermal exposure</i></b>					
Mixing/loading	3.00000	0.03000	0.03000	0.03000	mg/pers./day
Application	14.37500	14.37500	13.50875	2.10875	mg/pers./day
Total dose	17.37500	14.40500	13.53875	2.13875	mg/pers./day
<b><i>Inhalation</i></b>					
Mixing/loading	0.00150	0.00150	0.00150	0.00150	mg/pers./day
Application	0.04500	0.04500	0.04500	0.04500	mg/pers./day
Total dose	0.04650	0.04650	0.04650	0.04650	mg/pers./day
<b>Total absorbed dose</b>	<b>17.42150</b>	<b>14.45150</b>	<b>13.58525</b>	<b>2.18525</b>	mg/pers./day
<b>Total absorbed dose in mg/kg for 70 kg</b>	<b>0.25</b>	<b>0.21</b>	<b>0.19</b>	<b>0.03</b>	mg/kg bw./day
<b>MOS</b>	<b>1.21</b>	<b>1.45</b>	<b>1.55</b>	<b>9.61</b>	

**ANNEX V: AIR ASSISTED SPRAY ON QUAD-BIKE OR CATERPILLAR WITHOUT CAB (PHED).**

Subset Specifications for TEMP.NAME.MLOD

With Solid Type Not Equal to 1 and Not Equal to 2 and Not Equal to 3 and Not Equ

Subset originated from TEMP.NAME.MLOD

With Liquid Type Not Equal to 5 and Not Equal to 4 and

With Tank/Hoppers Capacity Less than or Equal to 150 and Greater than or Equal t

Subset originated from MLOD.FILE

## SUMMARY STATISTICS FOR CALCULATED DERMAL EXPOSURES

SCENARIO: Long pants, long sleeves, gloves

PATCH	DISTRIB.	MICROGRAMS PER KG AI MIXED					
LOCATION	TYPE	Median	Mean	Coef of Var	Geo. Mean	Obs.	
HEAD (ALL)	Other	.574	23.3188	556.9495	1.1759	35	
NECK.FRONT	Other	.0993	1.2863	278.2736	.2501	32	
NECK.BACK	Other	.0486	.2671	271.9008	.0947	32	
UPPER ARMS	Lognormal	2.5695	7461.2914	199.9426	22.4305	4	
CHEST	Other	1.5673	3.0278	116.6521	2.2143	22	
BACK	Lognormal	1.5673	2.547	56.3703	2.2494	8	
FOREARMS	Lognormal	2.9382	16.7982	247.9486	2.9439	9	
THIGHS	Lognormal	1.2649	1.2649	47.1379	1.1925	2	
LOWER LEGS	Lognormal	4.7285	34.8256	226.8116	7.4408	7	
FEET	Lognormal	1.1567	2.1208	119.3921	1.4265	6	
HANDS	Lognormal	10.3656	143.2865	266.1745	16.0442	28	
TOTAL DERM:	56.017	26.8799	7690.0344		57.4629		
INHALATION:	Lognormal	1.1038	1.7157	214.5008	.3991	33	
COMBINED:	56.4161	27.9837	7691.7501		57.862		
95% C.I. on Mean: Dermal: [-303496.5827, 318876.6516]							
95% C.I. on Geo. Mean: Inhalation: [.0078, 20.4416]							
Inhalation Rate : 25 Liters/Minute				Number of Records: 36			
Data File: MIXER/LOADER				Subset Name: TEMP.NAME.MLOD			

## SUMMARY STATISTICS FOR CALCULATED DERMAL EXPOSURES

SCENARIO: Long pants, long sleeves, no gloves

PATCH	DISTRIB.	MICROGRAMS PER KG AI MIXED					
LOCATION	TYPE	Median	Mean	Coef of Var	Geo. Mean	Obs.	
HEAD (ALL)	Other	.574	23.3188	556.9495	1.1759	35	
NECK.FRONT	Other	.0993	1.2863	278.2736	.2501	32	
NECK.BACK	Other	.0486	.2671	271.9008	.0947	32	
UPPER ARMS	Lognormal	2.5695	7461.2914	199.9426	22.4305	4	
CHEST	Other	1.5673	3.0278	116.6521	2.2143	22	
BACK	Lognormal	1.5673	2.547	56.3703	2.2494	8	
FOREARMS	Lognormal	2.9382	16.7982	247.9486	2.9439	9	
THIGHS	Lognormal	1.2649	1.2649	47.1379	1.1925	2	
LOWER LEGS	Lognormal	4.7285	34.8256	226.8116	7.4408	7	
FEET	Lognormal	1.1567	2.1208	119.3921	1.4265	6	
HANDS	Lognormal	8672.343	14461.2669	91.5957	9525.3086	9	
TOTAL DERM:	9565.2814	8688.8574	22008.0148		9566.7274		
INHALATION:	Lognormal	1.1038	1.7157	214.5008	.3991	33	
COMBINED:	9565.6805	8689.9611	22009.7305		9567.1265		
95% C.I. on Mean: Dermal: [-339591.1342, 383607.1638]							
95% C.I. on Geo. Mean: Inhalation: [.0078, 20.4416]							
Inhalation Rate : 25 Liters/Minute				Number of Records: 36			
Data File: MIXER/LOADER				Subset Name: TEMP.NAME.MLOD			

## ANNEX V: AIR ASSISTED SPRAY ON QUAD-BIKE OR CATERPILLAR WITHOUT CAB. (CNTN...)

Application :

Subset Specifications for TEMP.NAME.APPL

With Application Method Equal to 1 and

With Cab Type Equal to 1 and

With Total lb ai Applied Less than or Equal to 40

Subset originated from APPL.FILE

### SUMMARY STATISTICS FOR CALCULATED DERMAL EXPOSURES

SCENARIO: Long pants, long sleeves, no gloves

PATCH	DISTRIB.	MICROGRAMS PER KG AI SPRAYED				Obs.
LOCATION	TYPE	Median	Mean	Coef of Var	Geo. Mean	
HEAD (ALL)	Lognormal	858.3444	1942.0731	140.4455	481.9623	53
NECK.FRONT	Lognormal	31.606	76.417	150.7969	23.0475	44
NECK.BACK	Lognormal	23.2263	62.4422	149.5685	20.2247	48
UPPER ARMS	Other	15.4172	142.0216	192.6326	31.7695	47
CHEST	Lognormal	19.5916	115.8594	181.527	27.7726	51
BACK	Other	15.6733	108.0534	193.7485	22.9751	51
FOREARMS	Other	6.9448	40.43	178.4355	11.5404	47
THIGHS	Lognormal	31.2009	84.9631	225.3248	26.0442	53
LOWER LEGS	Lognormal	15.7616	33.6492	130.8428	14.5545	43
FEET						0
HANDS	Lognormal	193.9141	1208.9278	252.8146	235.0258	28
TOTAL DERM:	866.6669	1211.6801	3814.8369		894.9166	
INHALATION:	Other	6.9391	16.0475	210.5482	6.7095	67
COMBINED:	873.606	1218.6192	3830.8843		901.626	
95% C.I. on Mean: Dermal: [-25045.8992, 32675.573]						
95% C.I. on Geo. Mean: Inhalation: [.3927, 114.6403]						
Inhalation Rate : 25 Liters/Minute      Number of Records: 71						
Data File: APPLICATOR      Subset Name: TEMP.NAME.APPL						

### SUMMARY STATISTICS FOR CALCULATED DERMAL EXPOSURES

SCENARIO: Long pants, long sleeves, gloves

PATCH	DISTRIB.	MICROGRAMS PER KG AI SPRAYED				Obs.
LOCATION	TYPE	Median	Mean	Coef of Var	Geo. Mean	
HEAD (ALL)	Lognormal	858.3444	1942.0731	140.4455	481.9623	53
NECK.FRONT	Lognormal	31.606	76.417	150.7969	23.0475	44
NECK.BACK	Lognormal	23.2263	62.4422	149.5685	20.2247	48
UPPER ARMS	Other	15.4172	142.0216	192.6326	31.7695	47
CHEST	Lognormal	19.5916	115.8594	181.527	27.7726	51
BACK	Other	15.6733	108.0534	193.7485	22.9751	51
FOREARMS	Other	6.9448	40.43	178.4355	11.5404	47
THIGHS	Lognormal	31.2009	84.9631	225.3248	26.0442	53
LOWER LEGS	Lognormal	15.7616	33.6492	130.8428	14.5545	43
FEET						0
HANDS	Lognormal	3.1461	13.2879	105.2181	3.4687	33
TOTAL DERM:	635.1098	1020.9121	2619.1969		663.3594	
INHALATION:	Other	6.9391	16.0475	210.5482	6.7095	67
COMBINED:	642.0489	1027.8512	2635.2444		670.0689	
95% C.I. on Mean: Dermal: [-13267.2392, 18505.633]						
95% C.I. on Geo. Mean: Inhalation: [.3927, 114.6403]						
Inhalation Rate : 25 Liters/Minute      Number of Records: 71						
Data File: APPLICATOR      Subset Name: TEMP.NAME.APPL						

## ANNEX V: AIR ASSISTED SPRAY ON QUAD-BIKE OR CATERPILLAR WITHOUT CAB. (CNTN...)

SUMMARY STATISTICS FOR CALCULATED DERMAL EXPOSURES  
 SCENARIO: Protective overall over long pants, long sleeves, gloves

PATCH	DISTRIB.	MICROGRAMS PER KG AI SPRAYED				Obs.
LOCATION	TYPE	Median	Mean	Coef of Var	Geo. Mean	
HEAD (ALL)	Lognormal	858.3444	1942.0731	140.4455	481.9623	53
NECK.FRONT	Lognormal	31.606	76.417	150.7969	23.0475	44
NECK.BACK	Lognormal	23.2263	62.4422	149.5685	20.2247	48
UPPER ARMS						0
CHEST	Lognormal	29.3874	35.1342	36.1151	33.362	6
BACK	Lognormal	29.3874	35.1342	36.1151	33.362	6
FOREARMS	Lognormal	12.6876	12.8658	31.2223	12.3296	6
THIGHS	Lognormal	31.6225	37.8064	36.1152	35.8993	6
LOWER LEGS						0
FEET						0
HANDS	Lognormal	3.1461	13.2879	105.2181	3.4687	33
TOTAL DERM:	643.6561	1019.4077	2215.1607		643.6561	
INHALATION:	Other	6.9391	16.0475	210.5482	6.7095	67
COMBINED:	650.5952	1026.3468	2231.2082		650.3656	

95% C.I. on Mean: Dermal: [-13446.1908, 17876.5122]  
 95% C.I. on Geo. Mean: Inhalation: [.3927, 114.6403]  
 Inhalation Rate : 25 Liters/Minute      Number of Records: 71  
 Data File: APPLICATOR      Subset Name: TEMP.NAME.APPL

## ANNEX VI: NON AIR ASSISTED SPRAY MOUNTED ON A 4WD PICK-UP. HIGH OR LOW PRESSURE

### PHED DATA

Subset Specifications for TEMP.NAME.MLAP

With Application Method Equal to 7 (low pressure hand wand) and

With Solid Type Not Equal to 1 and Not Equal to 2 and Not Equal to 3 and Not Equal to 4

Subset originated from MLAP.FILE

#### SUMMARY STATISTICS FOR CALCULATED DERMAL EXPOSURES

SCENARIO: Long pants, long sleeves, no gloves

PATCH LOCATION	DISTRIB. TYPE	Median	Mean	PER AVERAGE Coef of Var	KG AI Geo. Mean	Obs.
HEAD (ALL)	Other	586.7219	1453.7221	136.7049	641.2841	80
NECK.FRONT	Lognormal	45.7285	304.4649	369.6483	41.7819	80
NECK.BACK	Lognormal	37.3466	190.5682	429.9868	32.7481	79
UPPER ARMS	Lognormal	33.404	246.8682	232.934	72.0113	10
CHEST	Other	40.7506	519.1777	185.929	108.1139	10
BACK	Other	40.7506	361.5828	202.4421	91.7711	10
FOREARMS	Other	13.8896	90.4161	267.6492	20.777	10
THIGHS	Other	43.8499	83.8583	115.1859	61.0898	9
LOWER LEGS	Lognormal	27.3201	147.7503	164.3135	66.2784	9
FEET						0
HANDS	Lognormal	212777.289	296912.7662	83.7697	224347.8781	70
TOTAL DERM:	225286.6604	213647.0506	300311.1748		225483.7338	
INHALATION:	Other	57.4872	89.4956	105.042	46.843	80
COMBINED:	225344.1476	213704.5377	300400.6704		225530.5768	
95% C.I. on Mean: Dermal: [-940019.7125, 1540642.0622]						
95% C.I. on Geo. Mean: Inhalation: [2.9013, 756.2973]						
Inhalation Rate : 25 Liters/Minute				Number of Records: 80		
Data File: MIXER/LOADER/APPLICATOR				Subset Name: TEMP.NAME.MLAP		

#### SUMMARY STATISTICS FOR CALCULATED DERMAL EXPOSURES

SCENARIO: Long pants, long sleeves, gloves

PATCH LOCATION	DISTRIB. TYPE	Median	Mean	PER AVERAGE Coef of Var	KG AI Geo. Mean	Obs.
HEAD (ALL)	Other	586.7219	1453.7221	136.7049	641.2841	80
NECK.FRONT	Lognormal	45.7285	304.4649	369.6483	41.7819	80
NECK.BACK	Lognormal	37.3466	190.5682	429.9868	32.7481	79
UPPER ARMS	Lognormal	33.404	246.8682	232.934	72.0113	10
CHEST	Other	40.7506	519.1777	185.929	108.1139	10
BACK	Other	40.7506	361.5828	202.4421	91.7711	10
FOREARMS	Other	13.8896	90.4161	267.6492	20.777	10
THIGHS	Other	43.8499	83.8583	115.1859	61.0898	9
LOWER LEGS	Lognormal	27.3201	147.7503	164.3135	66.2784	9
FEET						0
HANDS	Other	4.5989	22.9029	252.7287	6.664	10
TOTAL DERM:	943.3812	874.3605	3421.3115		1142.5196	
INHALATION:	Other	57.4872	89.4956	105.042	46.843	80
COMBINED:	1000.8684	931.8477	3510.8071		1189.3627	
95% C.I. on Mean: Dermal: [-18146.6494, 24989.2723]						
95% C.I. on Geo. Mean: Inhalation: [2.9013, 756.2973]						
Inhalation Rate : 25 Liters/Minute				Number of Records: 80		
Data File: MIXER/LOADER/APPLICATOR				Subset Name: TEMP.NAME.MLAP		

## ANNEX VI: NON AIR ASSISTED SPRAY MOUNTED ON A 4WD PICK-UP. HIGH OR LOW PRESSURE (CNTN ...)

### SUMMARY STATISTICS FOR CALCULATED DERMAL EXPOSURES

SCENARIO: Protective overall over long pants, long sleeves, gloves

PATCH	DISTRIB.	MICROGRAMS PER AVERAGE KG AI				Obs.
LOCATION	TYPE	Median	Mean	Coef of Var	Geo. Mean	
HEAD (ALL)	Other	586.7219	1453.7221	136.7049	641.2841	80
NECK.FRONT	Lognormal	45.7285	304.4649	369.6483	41.7819	80
NECK.BACK	Lognormal	37.3466	190.5682	429.9868	32.7481	79
UPPER ARMS						0
CHEST						0
BACK						0
FOREARMS						0
THIGHS						0
LOWER LEGS						0
FEET						0
HANDS	Other	4.5989	22.9029	252.7287	6.664	10
TOTAL DERM:	665.8508	674.3958	1971.6581		722.4781	
INHALATION:	Other	57.4872	89.4956	105.042	46.843	80
COMBINED:	723.338	731.883	2061.1536		769.3212	

95% C.I. on Mean: Dermal: [-9379.0502, 13322.3664]  
 95% C.I. on Geo. Mean: Inhalation: [2.9013, 756.2973]  
 Inhalation Rate : 25 Liters/Minute      Number of Records: 80  
 Data File: MIXER/LOADER/APPLICATOR      Subset Name: TEMP.NAME.MLAP

**ANNEX VII: NON AIR ASSISTED SPRAY MOUNTED ON A 4WD PICK-UP. HIGH OR LOW PRESSURE: EUROPOEM**

<b>M/L</b>	PDE excl hands in µg/kg a.s.	ADE excl hands in µg/kg a.s.	Protected hands in µg/kg a.s.	Unprotected hands in µg/kg a.s.	Protective gloves in µg/kg a.s.	Potential hands in µg/kg a.s.	Potential dermal in µg/kg a.s.	Actual dermal in µg/kg a.s.	Inhalation in µg/kg a.s.
Number of values	35	12	20	40	15	55	31	8	21
% of BLQ									
A.M.	5 853	21	170	78 730	24 582	63 995	55 635	53	1
ASD	15 561	25	283	234 137	22 676	200 788	133 572	59	1
GM	721	10	33	10 012	13 964	10 983	14 635	25	1
GSD	7	4	8	7	4	6	5	4	3
Max value	83 173	85	1 018	1 340 246	78 571	1 340 246	601 900	154	3
90th percentile	14 824	41	545	87 231	53 762	59 960	56 071	135	2
75th percentile	1 875	36	147	27 774	33 869	30 214	40 635	84	1.4
50th percentile	582	9	28	9 329	21 071	10 733	16 614	24	1
25th percentile	208	4	9	2 435	7 798	3 522	5 184	10	0
Min Value	12	1	0	175	453	175	780	3	0

<b>Appl</b>	PDE excl hands in µg/kg a.s.	ADE excl hands in µg/kg a.s.	Protected hands in µg/kg a.s.	Unprotected hands in µg/kg a.s.	Protective gloves in µg/kg a.s.	Potential hands in µg/kg a.s.	Potential dermal in µg/kg a.s.	Actual dermal in µg/kg a.s.	Inhalation in µg/kg a.s.
Number of values	103	12	11	47	62	109	85	6	89
% of BLQ									
A.M.	245 137	42 619	15 357	31 519	51 544	44 413	271 920	54 093	329
ASD	333 152	44 864	26 414	34 006	106 703	84 591	357 273	49 343	541
GM	111 743	14 797	3 128	15 927	16 926	14 797	139 440	23 271	73
GSD	4	6	7	4	5	6	3	6	7
Max value	2 008 450	126 119	71 512	145 721	644 343	644 343	2 012 155	127 004	2 639
90th percentile	646 736	97 742	64 594	81 265	79 573	99 379	676 023	108 599	1 098
75th percentile	272 585	73 624	10 658	37 124	59 791	45 857	309 605	83 160	356
50th percentile	131 801	26 983	2 223	23 364	14 714	17 568	142 601	51 006	82
25th percentile	48 591	3 664	673	8 124	6 636	7 288	74 900	12 930	11
Min Value	719	1 014	303	551	538	538	2 856	1 425	2

**ANNEX VIII AERIAL APPLICATION**

## Subset Specifications for TEMP.NAME.APPL

With Solid Type Not Equal to 4

Subset originated from TEMP.NAME.APPL

With Application Method Equal to 5

Subset originated from APPL.FILE

SUMMARY STATISTICS FOR CALCULATED DERMAL EXPOSURES

SCENARIO: Long pants, long sleeves, no gloves

PATCH LOCATION	DISTRIB. TYPE	Median	Mean	Coef of Var	PER LB AI SPRAYED	Geo. Mean	Obs.
HEAD (ALL)	Other	.13	1.3035	208.6229		.3801	74
NECK.FRONT	Other	.03	.1256	218.7102		.0415	70
NECK.BACK	Other	.011	.0843	247.6868		.0251	62
UPPER ARMS	Other	.291	2.7882	207.3668		.9003	43
CHEST	Other	.355	2.6786	237.0081		.8459	55
BACK	Other	.355	3.4209	232.4359		.9279	55
FOREARMS	Other	.242	1.3557	195.6701		.4239	44
THIGHS	Other	.382	4.2118	229.9349		1.2216	39
LOWER LEGS	Other	.238	2.3523	245.9975		.6721	43
FEET	Lognormal	.393	.4803	88.8195		.3311	12
HANDS	Lognormal	1.9125	7.4962	229.5403		1.562	58
TOTAL DERM:	3.9271	4.3395	26.2974			7.3315	
INHALATION:	Lognormal	.0739	.2827	250.1238		.0726	65
COMBINED:	3.9997	4.4134	26.5801			7.4041	

95% C.I. on Mean: Dermal: [-181.1279, 233.7227]  
 95% C.I. on Geo. Mean: Inhalation: [.0025, 2.1307]  
 Inhalation Rate : 25 Liters/Minute      Number of Records: 81  
 Data File: APPLICATOR      Subset Name: TEMP.NAME.APPL

SUMMARY STATISTICS FOR CALCULATED DERMAL EXPOSURES

SCENARIO: Long pants, long sleeves, gloves

PATCH LOCATION	DISTRIB. TYPE	Median	Mean	Coef of Var	PER LB AI SPRAYED	Geo. Mean	Obs.
HEAD (ALL)	Other	.13	1.3035	208.6229		.3801	74
NECK.FRONT	Other	.03	.1256	218.7102		.0415	70
NECK.BACK	Other	.011	.0843	247.6868		.0251	62
UPPER ARMS	Other	.291	2.7882	207.3668		.9003	43
CHEST	Other	.355	2.6786	237.0081		.8459	55
BACK	Other	.355	3.4209	232.4359		.9279	55
FOREARMS	Other	.242	1.3557	195.6701		.4239	44
THIGHS	Other	.382	4.2118	229.9349		1.2216	39
LOWER LEGS	Other	.238	2.3523	245.9975		.6721	43
FEET	Lognormal	.393	.4803	88.8195		.3311	12
HANDS	Lognormal	2.8942	5.5983	116.814		1.8411	16
TOTAL DERM:	4.2062	5.3212	24.3995			7.6106	
INHALATION:	Lognormal	.0739	.2827	250.1238		.0726	65
COMBINED:	4.2788	5.3951	24.6822			7.6832	

95% C.I. on Mean: Dermal: [-159.1306, 207.9296]  
 95% C.I. on Geo. Mean: Inhalation: [.0025, 2.1307]  
 Inhalation Rate : 25 Liters/Minute      Number of Records: 81  
 Data File: APPLICATOR



### 3. Saisine n° 2006/008

#### 3.1. Contexte, objet et modalités de traitement de la saisine

##### 3.1.1. Contexte de la saisine

Dans le cadre de la gestion de la crise due à l'épidémie de Chikungunya sur l'Île de la Réunion, le Directeur général de la santé (DGS - Ministère de la santé et des solidarités), le Directeur de la prévention des pollutions et des risques (DPPR - Ministère de l'écologie et du développement durable<sup>7</sup>) et le Directeur des relations au travail<sup>8</sup> (DRT - Ministère de l'emploi, de la cohésion sociale et du logement) ont confié à l'Afsset le 24 août 2006, une saisine relative à l'évaluation comparée des produits larvicides utilisables en lutte antivectorielle.

L'instruction de cette saisine s'intègre dans une stratégie globale d'expertise des moyens de lutte contre l'épidémie de Chikungunya pour laquelle l'Afsset a également été saisie :

- Saisine du 26 janvier 2006, relative à une demande d'usage essentiel pour la substance active téméphos ;
- Saisine du 10 février 2006, relative à l'évaluation comparée des produits de lutte antivectorielle adulticides, et demande complémentaire du 24 août 2006 pour évaluer les substituts potentiels ;
- Saisine du 22 août 2006, relative à l'évaluation des risques liés à l'utilisation des produits insecticides d'imprégnation des moustiquaires et des vêtements.

##### 3.1.2. Objet de la saisine

Les premiers traitements larvicides ont été conduits avec des produits à base de téméphos. Toutefois, au regard de l'inquiétude exprimée par la population de la Réunion sur les effets pour la santé et les impacts sur les écosystèmes du téméphos, les pouvoirs publics ont rapidement décidé son remplacement par le Bti. C'est ainsi qu'une nouvelle saisine a été adressée à l'Afsset le 24 août 2006, sur l'évaluation comparée de l'efficacité et des risques liés à l'usage des produits larvicides utilisables en lutte antivectorielle.

##### 3.1.3. Traitement de la saisine

Après consultation de la DPPR, de la DGS, du CEHTRA et de l'IRD et sur la base des travaux bibliographiques de ce dernier, le pyriproxifène et le spinosad ont été retenus pour leur efficacité attendue et leur profil toxicologique *a priori* favorable. Ces deux substances ont été évaluées comparativement au Bti qui est actuellement le larvicide de référence.

A l'issue de la présentation de la saisine au CES le 21 septembre 2006, la création d'un groupe de travail *ad hoc* n'a pas été jugé utile et le traitement de la saisine a été confié directement au CES qui a pu s'appuyer sur des travaux spécifiques réalisés par des prestataires reconnus.

Les travaux de synthèse des données disponibles et d'évaluation des dangers et des risques de ces deux substances, ainsi que la rédaction de rapports ont été confiés au CEHTRA, à la suite de l'appel d'offre du 2 août 2006. La relecture des rapports « pyriproxifène » et « spinosad » et la rédaction de commentaires ont été confiées à deux experts du CES, M. Devillers et Mme Quiniou, et aux scientifiques de l'Afsset. Celle du rapport « Bti » a été confiée à trois experts M. Devillers, Mme Quiniou et Mme Roques, et aux scientifiques de l'Afsset.

<sup>7</sup> Actuel Ministère de l'écologie, du développement et de l'aménagement durable

<sup>8</sup> Actuel Directeur général du travail

---

Mme Drugeon, de la DPPR, a présenté lors de la séance du CES du 5 octobre 2006, le contexte global de la lutte antivectorielle en France.

Les commentaires sur les rapports pyriproxifène et spinosad ont été présentés par les rapporteurs aux autres membres du CES lors de la séance du 4 janvier 2007. Lors de cette séance, M. Darriet, de l'IRD, a présenté les principaux résultats de l'analyse bibliographique sur les insecticides utilisables en lutte antivectorielle et M. Rolland, du CEHTRA, les principaux résultats du rapport d'évaluation des risques.

Les commentaires sur le rapport Bti ont été présentés par les rapporteurs aux autres membres du CES lors de la séance du 8 mars 2007.

M. Adrian, du CEHTRA, a présenté lors de la séance du 3 mai 2007 une comparaison des risques liés à l'utilisation du pyriproxifène, du spinosad et du Bti. Lors de cette séance, le CES a rendu ses conclusions sur la saisine.

Par ailleurs, un programme d'essai en laboratoire et en conditions semi-contrôlées, dont les résultats sont attendus pour décembre 2007, a été lancé. Ils doivent permettre d'évaluer l'efficacité du Bti par rapport aux substituts qui ont été identifiés (pyriproxifène et spinosad) ; de mettre en évidence les risques d'apparition de phénomènes de résistance et enfin de définir, le cas échéant, les conditions de mise en œuvre de ces produits.

Le secrétariat scientifique a été assuré par l'Afsset et la saisine instruite conformément aux règles qualité en expertise de la norme NFX 50-110.



### **3.2. Revue des insecticides larvicides et adulticides disponibles pour les opérations de lutte contre les moustiques (juillet 2007)**



# **Insecticides larvicides et adulticides disponibles pour les opérations de lutte contre les moustiques**

## **Synthèse bibliographique**

**Frédéric Darriet, Sébastien Marcombe et Vincent Corbel**

**Juillet 2007**



## 1. Introduction

Ces 30 dernières années ont vu la résurgence dramatique de maladies infectieuses de toutes sortes, particulièrement celles à transmission vectorielle (Gubler, 2004). Tandis que de nouvelles pathologies apparaissent (fièvre de la vallée du Rift, West Nile), un problème majeur est venu de la réémergence de parasites et de virus qui avaient été efficacement contrôlés dans certaines régions du monde tels que le paludisme, la leishmaniose, l'encéphalite japonaise, la fièvre jaune ou la dengue. En effet, l'aire de répartition des arthropodes impliqués dans la transmission de ces maladies n'a cessé de s'étendre, plaçant ainsi de nouvelles populations humaines dans des zones à risque d'infection.

La dengue est actuellement l'arbovirose la plus répandue dans le monde (Kuno, 1995). Le nombre annuel de cas d'infection y est estimé à 20 millions, dont environ 24 000 décès (Gubler, 1998). L'extension et l'incidence de la dengue (formes classique et hémorragique) sont en constante augmentation ces 30 dernières années et on estime à plus de deux milliards le nombre de personnes vivant dans la centaine de pays où existe un risque potentiel de transmission de la maladie. La forme hémorragique a fait son apparition dans la région des Amériques en 1981 (épidémie de Cuba, 158 morts). Depuis, de nombreux pays des Caraïbes ont été touchés et la dengue est devenue un réel problème de santé publique dans cette partie du globe.

En 2005, le sérotype 4 est à nouveau réapparu, après un épisode silencieux de près de 10 ans. Cette réapparition a été à l'origine d'une grande épidémie qui a touché plus de 12 000 personnes (estimation de la DSDS) de juillet à décembre 2005, principalement à la Martinique. Depuis début 2006, la Guyane est également confrontée à une épidémie sévère de dengue de sérotype DEN-2. Depuis le début de l'épidémie, 1 951 cas de dengue ont été enregistrés dont 4 décès directement imputés au virus (InVS, 2006). Depuis avril 2005, le département de la Réunion est confronté à une épidémie de Chikungunya de grande ampleur (plus de 250 000 cas recensés) (IGAS, 2006 ; BEH, 2006). La persistance de foyers actifs malgré la fin de l'hiver austral 2005 indique que les efforts déployés par le service de lutte antivectorielle (LAV) de la DRASS et les mesures de prévention n'ont pas permis d'éradiquer le virus lors de ce premier épisode épidémique.

Pour faire face à ce type de maladie (dengue, Chikungunya), il n'y a actuellement ni médicament spécifique, ni vaccin ; le seul moyen est le recours à la lutte contre le moustique vecteur (destruction des gîtes larvaires, utilisation d'insecticides larvicides en période inter-épidémique ; pulvérisation d'insecticides adulticides en période d'épidémie). Les insecticides utilisés par les services de la LAV dans les départements français d'Outre-Mer concernent essentiellement les biopesticides tels que le *Bacillus thuringiensis var israelensis* (*Bti*) et le *Bacillus sphaericus* (*BSP*). Le *Bti* constitue le produit de référence dans la lutte contre les *Aedes* bien qu'il ne soit efficace que pendant 1 à 2 semaines après son application (sédimentation rapide au fond des gîtes larvaires). En ce qui concerne *Bacillus sphaericus*, des résistances sont apparues rapidement, en Martinique notamment. D'autres insecticides à activité larvicide ou adulticide complètent la gamme des insecticides utilisés : il s'agit du diflubenzuron (inhibiteur de croissance de type ecdysoïde), et de certains organophosphorés tels que le fénitrothion et le malathion (qui posent certains problèmes d'efficacité et d'acceptabilité par les collectivités) ou certains pyréthrinoïdes telle que la deltaméthrine.

Malheureusement le principal vecteur de dengue, *Aedes aegypti*, a développé une résistance vis-à-vis des insecticides les plus couramment utilisés dans les différents programmes, que ce soit les organophosphorés ou les pyréthrinoïdes (Yébakima, 1991 ; Rosine, 1999, Brengues *et al.*, 2003). Pour faire face à l'inévitable problème de la résistance, tous les techniciens s'accordent sur la nécessité de disposer d'un panel assez large de molécules pour la LAV. A ce problème de résistance, s'ajoutent depuis quelques années des contraintes liées à l'utilisation/homologation des biocides. Ainsi, les molécules n'ayant pas été notifiées par les industriels dans le cadre de la Directive européenne Biocides 98/8/CE ou pour lesquelles aucun dossier d'homologation n'a été déposé, ne peuvent plus être utilisées par les services de démoustication : c'est le cas du malathion. Le téméphos a lui obtenu une prolongation de son autorisation d'utilisation jusqu'en 2009 grâce au soutien de la France pour une demande d'usage essentiel. L'ADEGE<sup>9</sup> en collaboration avec l'Organisation Mondiale de la Santé (OMS) et l'Institut de Recherche pour le Développement (IRD-UR016), milite en faveur de la disponibilité d'un panel plus

---

<sup>9</sup> L'ADEGE est l'Agence Nationale pour la Démoustication et la Gestion des Espaces Naturels Démoustiqués. Elle regroupe les établissements publics français s'occupant de la démoustication : Démoustication/Méditerranée, Démoustication Atlantique, Démoustication Rhône-Alpes, Conseil Général de la Guyane, Conseil Général de la Martinique.

large de produits larvicides et adulticides pour la démoustication (Déclaration de l'ADEGE et de l'EDEN<sup>10</sup>, Fort-de-France 2000 ; Montpellier 2002). Par conséquent, la perspective de valoriser des composés alternatifs d'origine biologique ou chimique répond à une demande forte tant de la part des opérateurs de démoustication que des industriels. Il est entendu que l'utilisation de nouvelles molécules ne pourrait se faire que dans un concept de lutte intégrée et de protection de l'environnement.

L'objectif principal de cette étude est de dresser une synthèse bibliographique claire et concise sur les substituts disponibles pour les opérations de démoustication en France (larvicides et adulticides). Ce mémoire concerne des molécules qui offrent d'intéressantes potentialités pour la LAV et qui ont fait l'objet d'évaluations récentes en santé publique par des instituts de recherche, des universités ou des organisations internationales. Les substituts potentiels retenus sont les suivants :

I. **Larvicide** : spinosad, pyriproxyfène, méthoprène, cyromazine.

II. **Adulticide** : chlorpyrifos-méthyl, pyrimiphos-méthyl, naled, pyrèthre, étoufenprox.

De notre point de vue, ces molécules répondent aux critères d'exigences pour la lutte contre les vecteurs en terme d'opérationnalité (efficacité, rémanence, applicabilité, coût, toxicité, résistance, etc...). La première partie du mémoire se consacre plus spécifiquement au mode d'action des molécules déjà utilisées en santé publique. La deuxième partie recense les substituts larvicides et adulticides potentiels pour la lutte contre les moustiques, en décrivant leur toxicité, leur efficacité (laboratoire/terrain) et leur perspective de résistance croisée avec les insecticides conventionnels. La troisième partie concerne les insecticides disponibles pour les imprégnations de matériaux tels que les vêtements, les moustiquaires et les rideaux. La dernière partie dresse une liste des biocides récemment évalués en santé publique mais pour lesquels certaines limitations opérationnelles sont apparues lors des différentes études (liste fournie à titre de complément d'informations).

## 2. Description des molécules déjà utilisées en santé publique

<sup>10</sup> L'EDEN est l'Association Européenne des Opérateurs Publics de Démoustication. Elle regroupe actuellement plus de 40 organismes et collectivités d'Espagne, de Grèce, d'Italie et de France.

Les insecticides développés dans ce chapitre et dans les chapitres suivants répondent à une classification OMS concernant leur toxicité sur les mammifères (WHO, 2005) dont les définitions sont les suivantes :

Classe I A : insecticides extrêmement dangereux pour l'homme,

Classe I B : insecticides très dangereux pour l'homme,

Classe II : insecticides modérément dangereux pour l'homme dans les conditions normales d'utilisation,

Classe III : insecticides peu dangereux pour l'homme dans les conditions normales d'utilisation,

Classe U : insecticides peu susceptibles de présenter un danger pour l'homme dans les conditions normales d'utilisation.

Les campagnes de lutte contre les moustiques peuvent s'exercer sur les larves et les nymphes aussi bien que sur les moustiques adultes. Il va de soi que les deux méthodes radicalement différentes l'une de l'autre font appel à des insecticides différents, tant au niveau de leur mode d'action que de la façon dont ils sont appliqués sur les surfaces à traiter.

## 2.1. La deltaméthrine (Classe II)

Formule chimique : [1R-[1 $\alpha$ (S\*),3  $\alpha$ ]-cyano(3-phénoxyphényl)méthyl 3-(2,2-dibromoéthényl)- 2,2-diméthylcyclopropanecarboxylate. Cet insecticide qui appartient à la famille chimique des pyréthrinoïdes agit en perturbant la cinétique d'inactivation du canal sodium, entraînant la paralysie puis la mort de l'insecte (Lund & Narahashi, 1983). Cet insecticide est pratiquement sans danger pour les mammifères avec une DL<sub>50</sub> pour le rat par ingestion de 135 à plus de 5 000 mg/kg (Tomlin, 2000).

Depuis plus de 20 ans, la deltaméthrine est recommandée pour lutter contre les stades adultes des moustiques. Comme pour la perméthrine (Darriet *et al.*, 1984), la deltaméthrine a été l'un des premiers pyréthrinoïdes évalués en imprégnation de moustiquaires (Ranque *et al.*, 1984 ; Carnevale *et al.*, 1988 ; Robert *et al.*, 1991). L'effet excitorépulsif de ce composé entraîne une limitation importante du contact entre l'homme et le moustique et en particulier pour *Anopheles gambiae*, le vecteur majeur du paludisme

en Afrique. De surcroît son efficacité insecticide puissante (effet *knock down\**) tue rapidement les moustiques qui entrent en contact avec les matériaux traités. Ces deux actions diminuent le taux de gorgement des moustiques, ce qui provoque une baisse de la transmission de la maladie. De nos jours, la deltaméthrine est l'insecticide le plus utilisé pour les imprégnations de moustiquaires car c'est un composé extrêmement efficace sur les moustiques à des doses très faibles (25 mg/m<sup>2</sup>). Cette efficacité n'est d'ailleurs pas réduite dans les régions où résident des populations d'*An. gambiae* résistantes aux pyréthrinoïdes par l'intermédiaire du gène *Kdr* (Darriet *et al.*, 2000 ; Corbel *et al.*, 2004a). En aspersion intradomiciliaire, l'Organisation Mondiale de la Santé (OMS) recommande l'usage de la deltaméthrine aux doses de 20 à 25 mg/m<sup>2</sup> avec une persistance d'action de 3 à 6 mois (WHO, 2006a).

Ainsi limité à un espace domestique, l'usage de la deltaméthrine en imprégnation de moustiquaires ou bien en aspersion intradomiciliaires donne de bons résultats. Si la deltaméthrine s'avère l'un des meilleurs insecticides utilisables à l'intérieur des habitations, elle peut en revanche montrer certaines limitations quand les traitements sont effectués à l'extérieur des habitations. Les doses de deltaméthrine recommandées par l'OMS en aspersion spatiales à chaud et à froid sont comprises entre 0,5 à 1 g/ha (WHO, 2006a). Toutefois, des essais réalisés en Martinique ont montré que la deltaméthrine tuait moins de 50 % des moustiques adultes issus de la population locale (Corriveau *et al.*, 2003). Ces faibles taux de mortalité s'expliquent par des résistances fortes de populations sauvages d'*Ae. aegypti* aux pyréthrinoïdes (Mebrahtu *et al.*, 1997 ; Brengues *et al.*, 2003). Il existe donc un besoin urgent de rechercher des produits de remplacement de la deltaméthrine afin de disposer d'un panel d'insecticides toujours plus efficaces sur les populations de moustiques nuisibles et vecteurs de maladies. La deltaméthrine a été notifiée dans le cadre de la Directive européenne Biocides 98/8/CE et un dossier d'homologation déposé dans les délais fixés. Elle peut donc continuer à être utilisée en attendant l'évaluation de son dossier d'homologation par la Commission européenne.

## **2.2. Le malathion (classe III)**

Formule chimique : diéthyl [diméthoxyphosphinothioyl)thio]butanedioate. Ce composé appartient au groupe chimique des organophosphorés qui inhibent l'acétylcholinestérase, une enzyme intervenant dans la régulation de l'influx nerveux (Aldridge, 1950). Cet

insecticide présente une faible toxicité sur les mammifères avec une DL<sub>50</sub> pour le rat par ingestion de 1 375 à 2 800 mg/kg (Tomlin, 2000).

Le malathion est l'un des insecticides à effet rémanent les plus utilisés dans la lutte contre les moustiques. Il est fréquemment employé à Tahiti, en Guyane et en Guadeloupe pour lutter contre *Ae. aegypti*, vecteur de la dengue. Le malathion est le moins cher de tous les organophosphorés et ne présente que peu de danger pour l'homme s'il est appliqué suivant les recommandations de l'OMS. En aspersions intradomiciliaires, les doses recommandées sont de 2 g/m<sup>2</sup> avec une persistance d'action de 2 à 3 mois (WHO, 2006a). L'OMS préconise aussi son utilisation en aspersion spatiale (ULV) aux doses de 112 à 600 g/ha si la nébulisation est faite à froid et de 500 à 600 g/ha si celle-ci est réalisée à chaud (WHO, 2006a). Le malathion possède l'avantage de se dégrader rapidement dans l'environnement, ce qui limite dans le temps son impact sur l'environnement. De plus le malathion est peu toxique sur les oiseaux et les mammifères ; en revanche son action biocide est élevée pour les poissons et les abeilles (Tomlin, 2000). Pour ce qui est de la surveillance de la sensibilité d'*Ae. aegypti* au malathion, une étude menée sur des populations sauvages d'Amérique latine a été réalisée à l'Institut de Médecine Tropicale de la Havane (Cuba). Les auteurs ont rapporté que les populations sauvages d'*Ae. aegypti* étaient restées sensibles à ce composé mais qu'en revanche, les populations de *Cx. quinquefasciatus* récoltées dans les mêmes zones affichaient des sensibilité au malathion de 16 à 208 fois (RR<sub>50</sub>) inférieures à celle de la souche de référence sensible (Rodriguez Coto *et al.*, 2000). De même dans de nombreuses régions des Caraïbes où le malathion a été utilisé pendant plus de 15 ans, il n'a été découvert que des niveaux de résistance faibles à modérés d'*Ae. aegypti* à cet insecticide (Georghiou *et al.*, 1987 ; Mekuria *et al.*, 1991 ; Rawlins & Ou Hing Wang, 1995). Le malathion a été notifié dans le cadre de la Directive européenne Biocides 98/8/CE mais aucun dossier d'homologation n'a été déposé dans les délais fixés (30/04/2006). Suite à cela, aucune intention de dépôt de dossier en dernier recours n'a été adressée dans les délais fixés (14/09/2006). Ainsi, depuis cette dernière date, cette molécule n'est plus autorisée.

### **2.3. Le fénitrothion (Classe II)**

Formule chimique : O,O-diméthyl O-(3-méthyl-4-nitrophényl)phosphorothioate. Comme le malathion, ce composé appartient au groupe chimique des organophosphorés qui inhibent

l'acétylcholinestérase, une enzyme intervenant dans la régulation de l'influx nerveux (Aldridge, 1950). Cet insecticide présente une toxicité modérée sur les mammifères avec une DL<sub>50</sub> pour le rat par ingestion de 1 700 à 1 720 mg/kg (Tomlin, 2000).

Ainsi classé comme modérément dangereux, le fénitrothion est considéré par l'OMS comme plus toxique pour l'homme et la faune non cible que le malathion. Son action insecticide s'exerce non seulement par contact mais aussi par inhalation, ce qui fait que ce composé reste souvent plus actif sur les insectes résistants au malathion (Rozendaal, 1999). En aspersion intradomiciliaires, l'OMS préconise l'utilisation du fénitrothion à la dose de 2 g/m<sup>2</sup> pour une durée d'efficacité de 3 à 6 mois. Pour les aspersion spatiales (ULV), il est recommandé de l'utiliser aux doses de 250 à 300 g/ha pour les nébulisations à froid et à chaud (WHO, 2006a). Le fénitrothion a été pendant un temps utilisé à l'Île de la Réunion pour lutter contre *Ae. albopictus*, le vecteur du Chikungunya. Toutefois son manque de sélectivité vis-à-vis de la faune non cible combiné à un risque probable de toxicité sur l'homme n'a pas permis son utilisation sur une plus grande échelle. Des cas de résistance modérée ont été découverts au Brésil chez certaines populations sauvages d'*Ae. aegypti* (Macoris *et al.*, 2003). De même, dans de nombreuses îles des Caraïbes (Jamaïque, Sainte Lucie, Porto Rico, Trinité ...) des résistances ont été trouvées sur *Ae. aegypti* à l'encontre des organophosphorés, dont le fénitrothion (Rauwlins & Ragoonansingh, 1990). Le fénitrothion a été notifié dans le cadre de la Directive européenne Biocides 98/8/CE et aucun dossier n'a été déposé dans les délais fixés (30/04/2006). Suite à cela, une intention de dépôt de dossier en dernier recours a été adressée dans les délais fixés (14/09/2006). Ainsi, cette molécule peut continuer à être utilisée en attendant le dépôt effectif d'un dossier d'homologation, dont le délai a été fixé au 30/04/2008.

## **2.4. Le *Bacillus thuringiensis* variété *israelensis* sérotype H14 (*Bti*)**

Le *Bacillus thuringiensis* var. *israelensis* (*Bti*) a été découvert en 1976 par Goldberg et Margalit dans le désert du Néguev en Israël (Goldberg & Margalit, 1977) à partir de larves mortes de *Culex pipiens*. Cette variété nommée *israelensis* a été identifiée à l'Institut Pasteur de Paris comme appartenant au 14<sup>ème</sup> sérotype de *B. thuringiensis* et a montré une importante activité entomopathogène sur les larves de moustiques (de Barjac, 1978). Les spores de *Bti* sont terminales et non déformantes. Ces spores renferment des

protoxines sous forme de cristaux qui sont ingérées par les larves de moustiques. Une fois dans l'intestin où règne un pH alcalin favorable à la solubilisation des cristaux, l'action d'enzymes protéolytiques permet l'hydrolyse de ces protoxines en toxines actives (Hofte & Whiteley, 1989). Une fois activées, les toxines de *Bti* entraînent une lyse complète des cellules de l'intestin moyen, puis la mort de la larve (Charles & de Barjac, 1983). Le *Bti* présente une toxicité faible sur les mammifères avec une  $DL_{50}$  pour le rat par ingestion supérieure à  $2\,670\text{ mg/kg} = 1 \times 10^{11}$  spores/kg (Tomlin, 2000).

Le *Bti* est considéré comme le larvicide de référence pour les opérations de lutte contre les moustiques. Aux doses normalement létales sur ces derniers, les toxines demeurent inoffensives pour les autres insectes, les poissons et les animaux supérieurs dont l'homme (Rozendaal, 1999). A noter qu'à ce jour, aucun mécanisme de résistance n'a été détecté chez les moustiques, les toxines constitutives du cristal agissant en synergie (Xue *et al.*, 2005). Le *Bti* est couramment utilisé dans le traitement des eaux de boisson à des doses comprises entre 1 et 5 mg/L, ce qui à grande échelle, représente des doses de traitement de l'ordre de 125 à 750 g/ha (WHO, 2006a). L'inconvénient du *Bti* dans la lutte contre les larves de moustiques est la sédimentation rapide des principes actifs au fond des gîtes, ce qui réduit sa rémanence et oblige de retraiter régulièrement les gîtes. Il est important de préciser aussi que le temps d'activité du *Bti* est différent selon la nature des gîtes (gîtes ouverts ou fermés, à l'ombre ou ensoleillés), la nature des eaux traitées (eaux claires ou polluées) et la formulation utilisée. La forme tablette dispersible (formulation DT = Dispersible Tablet) est utilisée dans les lieux de stockage des eaux de boisson à raison d'une tablette pour 100 L d'eau avec une activité résiduelle de l'ordre de 3 à 8 semaines (WHO, 2006b). Le *Bti* est aussi commercialisé sous la forme de suspension concentrée (SC) et de granules dispersibles dans l'eau (WG) (WHO, 2004a). Quelles que soient les formulations employées, un taux de matière organique important dans les eaux à traiter combiné à un ensoleillement direct des gîtes limite fortement l'activité résiduelle du *Bti* (WHO, 2006b). Le *Bti* a été notifié dans le cadre de la Directive européenne Biocides 98/8/CE et un dossier d'homologation a été déposé dans les délais fixés (30/04/2006). Il peut donc continuer à être utilisé en attendant l'évaluation de son dossier d'homologation par la Commission européenne.

### 3. Description des molécules alternatives pour la santé publique

## **3.1. Les larvicides**

### **3.1.1. Le spinosad (Classe U)**

Formule chimique : [50 à 95 % de (2*R*,3*aS*,5*aR*,5*bS*,9*S*,13*S*,14*R*,16*aS*,16*bR*)-2-(6-déoxy-2,3,4-tri-*O*-méthyl- $\alpha$ -L-mannopyranosyloxy)-13-(4-diméthylamino-2,3,4,6-tétradéoxy- $\beta$ -D-érythroxyranosyloxy)-9-éthyl-2,3,3*a*,5*a*,5*b*,6,7,9,10,11,12,13,14,15,16*a*,16*b*-hétéradécahydro-14-méthyl-1*H*-8-oxacyclododéca[*b*]as-indacène-7,15-dione et de 50 à 5 % (2*S*,3*aR*,5*aS*,5*bS*,9*S*,13*S*,14*R*,16*aS*,16*bR*)-2-(6-déoxy-2,3,4-tri-*O*-méthyl- $\alpha$ -L-mannopyranosyloxy)-13-(4-diméthylamino-2,3,4,6-tétradéoxy- $\beta$ -D-érythroxyranosyloxy)-9-éthyl-2,3,3*a*,5*a*,5*b*,6,7,9,10,11,12,13,14,15,16*a*,16*b*-hétéradécahydro-4,14-diméthyl-1*H*-8-oxacyclododéca[*b*]as-indacène-7,15-dione]. Le spinosad est un insecticide d'origine biologique (famille chimique des naturalites) composé d'un mélange de deux métabolites (spinosynes A et D) synthétisés par la bactérie *Saccharopolyspora spinosa*, du groupe des actinomycètes. Le mode d'action du spinosad est unique car il agit à la fois sur les récepteurs GABA et nicotiques (Salgado, 1998). Le spinosad possède une très faible toxicité pour les mammifères [(DL<sub>50</sub> pour le rat par ingestion de 3 783 à 5 000 mg/kg (Tomlin, 2000), l'environnement et la faune non cible (DowElenco 1994 ; Miles & Dutton, 2000 ; Williams *et al.*, 2003)]. Il est par exemple 100 à 1 000 fois moins toxique pour la faune aquatique et en particulier les poissons que les insecticides de la famille des pyréthrinoïdes (Bret *et al.*, 1997).

Les études en laboratoire réalisées avec la substance active ont montré une bonne activité larvicide du spinosad, aussi bien sur les souches sensibles aux insecticides d'*Aedes aegypti*, d'*Anopheles gambiae* et de *Culex quinquefasciatus* que celles résistantes aux organophosphorés, aux carbamates et aux pyréthrinoïdes (Darriet *et al.*, 2005a). Sur les souches sensibles de ces trois moustiques d'intérêt médical, les concentrations létales 50 (CL<sub>50</sub>) ont été respectivement de 0,35 ; 0,01 ; et 0,093 mg/L. Une autre étude réalisée avec un concentré émulsifiable (EC) de spinosad titrant 4,8 % de substance active a donné des CL<sub>50</sub> de 0,009 6 mg/L sur *Ae. aegypti*, 0,006 4 mg/L sur *Cx. pipiens* et de 0,039 mg/L sur *An. stephensis* (Romi *et al.*, 2006). Par rapport aux essais effectués avec la substance technique, la plus grande efficacité larvicide du

spinosad sous sa formulation EC pourrait s'expliquer par la nature huileuse de la formulation qui empêcherait les larves de moustiques de respirer à la surface de l'eau. A ce jour, il n'a pas été rapporté de mécanisme de résistance croisée avec les insecticides couramment utilisés en santé publique (pyréthrinoides, organophosphorés et carbamates). Toutefois, nous ne disposons actuellement pas de données permettant de prévoir le spectre de résistance croisée avec d'autres familles d'insecticide.

Les évaluations réalisées sur le terrain sont encore peu nombreuses. Sur *Ae. aegypti*, une étude a montré qu'à la concentration de 10 mg/L, l'efficacité de ce larvicide était totale sur une durée de cinq mois (Bond *et al.*, 2004). L'Organisation Mondiale de la Santé préconise d'ailleurs son utilisation dans la confection de pièges insecticides vis-à-vis des mouches domestiques (WHO, 2006a). Pour lutter contre les larves de moustiques, les doses recommandées sont de l'ordre de 0,1 à 0,5 mg/L avec une rémanence estimée à 10 à 12 semaines (WHO, 2007).

Les formulations disponibles sur le marché se présentent sous la forme de suspension concentrée (SC) et de concentré émulsifiable (EC). Le statut de bio-insecticide du spinosad est un atout aussi important que précieux pour son utilisation dans des situations écologiques fragiles. De surcroît, sa bonne efficacité aux faibles concentrations (de l'ordre de  $10^{-2}$  et  $10^{-3}$  mg/L) sur les larves de moustiques sensibles et résistantes aux insecticides en fait un alternatif de choix pour la lutte antivectorielle. A noter que le spinosad a été notifié dans le cadre de la Directive européenne Biocides 98/8/CE et qu'un dossier d'homologation a été déposé dans les délais fixés (30/04/2006). Il peut donc continuer à être utilisé en attendant l'évaluation de son dossier d'homologation par la Commission européenne.

### 3.1.2. Le pyriproxifène (Classe U)

Formule chimique : [4-phénoxyphényl (RS)-2-(2-pyridyloxy)propyl éther]. Le pyriproxifène est un analogue d'hormone juvénile qui se caractérise par une action quasi sélective sur les nymphes (type juvénoïde). Son action provoque un déséquilibre profond du système hormonal de l'insecte qui se traduit par une inhibition du développement, des troubles de comportement et des baisses importantes de la fertilité des adultes (Ishaaya & Horowitz, 1992). Ce composé présente une très faible toxicité sur les mammifères avec une  $DL_{50}$  pour le rat par ingestion supérieure à 5 000 mg/kg (Tomlin, 2000).

Des études de laboratoire ont permis d'établir la sensibilité de différentes espèces de moustiques à ce composé. La concentration létale 95 (CL<sub>95</sub>) qui totalise la mortalité des larves, des nymphes et des adultes à l'émergence s'est chiffrée à 0,017 mg/L pour *An. quadrimaculatus*, 0,002 6 mg/L pour *Ae. aegypti* et de 0,000 32 mg/L pour *Cx. tarsalis* (Estrada & Mulla, 1986). Sur *Ae. aegypti*, cet inhibiteur de croissance a montré qu'il agissait également à des concentrations très faibles (CL<sub>50</sub> = 0,000 11 mg/L et CL<sub>95</sub> = 0,000 32 mg/L) (Darriet & Corbel, 2006). Les tests de sensibilité réalisés sur différentes souches de moustiques n'ont pour l'instant pas révélé de résistance croisée avec les insecticides pyréthrinoïdes, organophosphorés et carbamates. Pour les autres familles d'insecticide, la découverte d'une résistance croisée n'a jamais été décrite sur les moustiques.

Les études menées sur le terrain ont montré que le pyriproxifène contrôlait sur plusieurs mois, les émergences imaginales\*\* des moustiques de *Culex*, *Anopheles* et *Aedes* (Kamimura & Arakawa 1991 ; Okazawa *et al.*, 1991 ; Yapabandara & Curtis, 2004 ; Sihuincha *et al.*, 2005). Il a par ailleurs été montré qu'une nouvelle formulation de pyriproxifène dite à relargage progressif (slow release formulation) à la dose de 0,036 mg/L engendrait une inhibition des émergences imaginales d'*Ae. aegypti* pendant six mois (Seng *et al.*, 2006). Cette formulation se caractérise par la dilution progressive de la substance active dans l'eau, ce qui induit des persistances d'action particulièrement longues. Par ailleurs, le pyriproxifène est recommandé par l'OMS pour lutter contre les larves de moustiques à des concentrations comprises entre 0,02 et 0,05 mg/L (5 à 10 g/ha) avec un temps d'activité de 6 semaines (WHO, 2001, 2006a). Le pyriproxifène peut être utilisé dans le traitement des eaux de boisson (WHO, 2004b). En principe, le traitement des eaux de boisson avec des substances larvicides n'est pas recommandé si ces eaux servent à une utilisation domestique. Toutefois, à des doses inférieures ou égales à 0,01 mg/L de substance active, le pyriproxifène ne pose pas de problème de toxicité, ni sur l'homme ni sur les animaux (Najera & Zaim, 2002). Si le pyriproxifène est efficace sur les moustiques tout en ne possédant aucune toxicité sur les mammifères, il conserve néanmoins les caractéristiques inhérentes aux inhibiteurs de la croissance des insectes, à savoir une action létale qui ne se fait sentir que plusieurs jours après le traitement. En effet, les larves ne sont que faiblement affectées par le pyriproxifène, ce qui peut poser certains problèmes opérationnels si les populations ne perçoivent pas immédiatement son action. Pour pallier à cet effet, les recherches se sont orientées ces

dernières années vers des mélanges d'insecticides possédant des modes d'action différents. Sur *Ae. aegypti*, une combinaison composée de pyriproxifène et de *Bti* a été évaluée en Malaisie (Lee *et al.*, 2005) alors qu'en laboratoire, le pyriproxifène a été étudié en mélange avec le spinosad (Darriet & Corbel, 2006). Dans les deux cas, l'action du biolarvicide (centrée sur les larves de moustiques) combinée avec celle du pyriproxifène (dont l'action est plus spécifiquement dirigée sur les nymphes et les adultes) a montré des résultats prometteurs pour le contrôle d'*Ae. aegypti*. Une complémentarité des actions qui a fait que le mélange a agi en synergie sur l'ensemble des stades pré-imaginaux des moustiques (Darriet & Corbel, 2006). L'action rapide des biolarvicides sur les larves pourrait donc faire disparaître les inconvénients liés à l'utilisation des inhibiteurs de croissance, à savoir la persistance des larves dans les milieux, plusieurs jours après le traitement.

Les formulations de pyriproxifène disponibles sur le marché se présentent sous la forme de granules à 0,5 % ainsi que sous la forme de briquettes qui libèrent progressivement le produit actif dans les milieux traités. Ce larvicide extrêmement actif sur les populations pré-imaginale\*\* des moustiques combiné à un conditionnement qui utilise la pointe de la technologie en matière de formulation fait de celui-ci un composé incontournable pour beaucoup de professionnels de la santé. Comme le spinosad, le pyriproxifène a été notifié dans le cadre de la Directive européenne Biocides 98/8/CE et un dossier d'homologation a été déposé dans les délais fixés (30/04/2006). Il peut donc continuer à être utilisé en attendant l'évaluation de son dossier d'homologation par la Commission européenne.

### 3.1.3. Le méthoprène (Classe U)

Formule chimique : [(E,E)-(±)-1-méthyléthyl11-méthoxy-3,7,11-triméthyl-2,4-dodécadiénoate]. Le méthoprène est un inhibiteur de la croissance des insectes qui appartient à la famille chimique des mimétiques d'hormone juvénile (type juvénoïde). Ce composé se caractérise par une action qui provoque un déséquilibre profond du système hormonal de l'insecte se traduisant par une inhibition du développement des nymphes de nombreux insectes et en particulier des moustiques. Ce composé présente une très faible toxicité sur les mammifères avec une dose létale 50 pour le rat par ingestion supérieure à 5 000 mg/kg (Tomlin, 2000).

Des tests de sensibilité effectués en laboratoire avec des larves de stade 3 de trois espèces de moustiques ont montré des CL<sub>50</sub> de 0,004 1 mg/L pour *An. dirus*, de 0,003 4 mg/L pour *Ae. aegypti* et de 0,000 8 mg/L pour *Cx. quinquefasciatus* (Phonchevin *et al.*, 1985). En laboratoire toujours, les CL<sub>90</sub> et les CL<sub>99</sub> ont été de respectivement, 0,003 2 et de 0,034 mg/L pour *An. quadrimaculatus*, de 0,01 et 0,099 mg/L pour *Ae. aegypti* et de 0,027 et 0,096 mg/L pour *Cx. quinquefasciatus* (WHO, 2001).

Depuis plus de vingt ans, le méthoprène est utilisé dans de nombreux pays pour lutter contre les vecteurs de dengue. Aux doses de 0,05 et de 0,1 mg/L, le méthoprène sous sa forme microcapsules (CS) et suspension concentrée (SC) entraîne durant 3 à 5 semaines, des réductions d'émergences imaginale\*\* d'*Ae. aegypti* de 98 à 100 %. A la même dose mais commercialisé sous sa forme concentré émulsifiable (EC), le méthoprène entraîne sur cette même espèce des réductions d'émergence de 85 à 91 % pendant 1 mois (WHO, 2001). L'OMS estime que ce produit peut-être utilisé sans danger pour traiter les eaux de boissons (WHO, 1985). A la dose de 0,1 mg/L, les formulations en briquettes et en granules sont efficaces sur *Ae. albopictus*. A la dose de traitement la plus élevée (10 mg/L), ces deux dernières formulations entraînent 100 % d'inhibition des émergences pendant cinq semaines (WHO, 2001). En Malaisie également, Sulaiman *et al.* (1994) rapportent une inhibition complète de l'émergence d'*Ae. albopictus* pendant 2 mois à la dose de 14 mg/L. Enfin, sur *Cx. quinquefasciatus*, les formulations SC et EC induisent aux doses de 0,2 et de 0,4 mg/L, des réductions d'émergence de 72 % et 94 % pendant 3 à 5 semaines (WHO, 2001).

Le méthoprène est un inhibiteur de la croissance des insectes qui convient particulièrement aux programmes de lutte intégrée. Aux doses recommandées, ce larvicide agit efficacement sur les larves de moustiques tout en n'étant pas toxique pour les hommes et les autres vertébrés. Les formulations en briquettes et en microcapsules libèrent lentement le produit actif, ce qui confère une activité résiduelle plus grande du larvicide, notamment dans les milieux riches en matière organique (latrines, puisards, caniveaux ...) et dans les marais salants. Quelques cas de résistance/tolérance des moustiques au méthoprène ont été signalés, notamment chez *Ochlerotatus nigromaculis* aux Etats-Unis (Cornel *et al.*, 2002), et *Culex quinquefasciatus* en Afrique de l'Est (Amin & White, 1984). Le méthoprène n'a pas été notifié dans le cadre de la Directive européenne Biocides 98/8/CE et ne peut donc plus être utilisé depuis le 01/09/2006.

### 3.1.4. La cyromazine (classe U)

Formule chimique : (N-cyclopropyl-1,3,5-triazine-2,4,6-triamine). La cyromazine est un inhibiteur de la croissance des insectes de la famille chimique des aminotriazines qui affecte le développement des larves et des nymphes d'insectes, dont les diptères. Le mode d'action de la cyromazine est encore mal connu ; toutefois son principal effet se traduit par une perturbation de la synthèse de la chitine entre les mues larvaires (inhibiteur de la croissance des insectes de type ecdysoïde) (Bel *et al.*, 2000). Cette molécule interfère aussi avec la synthèse de l'ADN en empêchant dans la cellule, l'intégration de la cytosine et de l'adénosine (Binnington & Retnakaran, 1991). Ce composé présente une faible toxicité sur les mammifères avec une dose létale 50 pour le rat par ingestion de 3 387 mg/kg (Tomlin, 2000).

Les études réalisées sur les moustiques sont actuellement peu nombreuses en laboratoire et inexistantes sur le terrain. Les tests de sensibilité en laboratoire ont montré des CL<sub>50</sub> de 0,004 2 mg/L pour *An. dirus*, de 0.23 mg/L pour *Ae. aegypti* et de 0,006 2 mg/L pour *Cx. quinquefasciatus* (Phonchevin *et al.*, 1985). Des tests de sensibilité similaires sont en cours de réalisation sur *Ae. aegypti*, *Cx. quinquefasciatus* et *An. gambiae* sensibles et résistants aux insecticides, dans le cadre du programme WHOPES au laboratoire de Lutte contre les Insectes Nuisibles (LIN/IRD) à Montpellier.

Outre son application sur les cultures pour lutter contre certains ravageurs (mouche mineuse et moucheron), la cyromazine est utilisée pour le traitement des structures d'élevage. L'OMS préconise son utilisation pour lutter contre les larves de mouches aux doses de 0,5 à 1 g s.a./m<sup>2</sup> (WHO, 2006a). Toutefois, des cas de résistance à la cyromazine ont été décrits sur des populations de mouches domestiques (*Musca domestica*) récoltées au Brésil (Pinto & Prado, 2001), dans l'état du Mississippi (USA) (Tang *et al.*, 2002) et au Danemark (Kristensen & Japersen, 2003). Cette résistance à la cyromazine semblerait se croiser avec le diflubenzuron, un inhibiteur de la croissance des insectes de type ecdysoïde appartenant à la famille chimique des benzoylphénylurées (Shen & Plapp, 1990). A ce jour, aucune population de moustique n'a été identifiée résistante à la cyromazine, ce qui en fait un larvicide alternatif intéressant dans les zones où les résistances aux pyréthrinoïdes et aux organophosphorés demeurent un obstacle à la LAV. Toutefois, la cyromazine n'a pas été

notifiée dans le cadre de la Directive européenne Biocides 98/8 et elle ne peut donc plus être utilisée depuis le 01/09/2006.

## 3.2. Les adulecticides

### 3.2.1. Le chlorpyrifos-méthyl (Classe U)

Formule chimique : (0,0-diméthyl 0-3,5,6-trichloro-2-pyridyl phosphorothioate). Ce composé appartient au groupe chimique des organophosphorés qui inhibent l'acétylcholinestérase, une enzyme intervenant dans la régulation de l'influx nerveux (Aldridge, 1950). Cet insecticide présente une faible toxicité sur les mammifères avec une DL<sub>50</sub> pour le rat par ingestion supérieure à 3 000 mg/kg (Tomlin, 2000).

Déterminées en laboratoires sur différentes espèces de moustiques sensibles aux insecticides, les doses diagnostiques<sup>11</sup> du chlorpyrifos-méthyl ont été de 0,2 % (ou 72,8 mg/m<sup>2</sup>) sur *Cx. quinquefasciatus* ; 0,4 % (ou 145,5 mg/m<sup>2</sup>) sur *An. gambiae* et 0,8 % (ou 291,2 mg/m<sup>2</sup>) sur *Ae. aegypti*. Ces doses diagnostiques largement inférieures à la dose diagnostique du malathion (5 %) montrent les fortes propriétés insecticides de ce composé (Darriet & Hougard, 2003a). Toujours en laboratoire, l'imprégnation de moustiquaires à la dose de 50 mg/m<sup>2</sup> de chlorpyrifos-méthyl a révélé l'existence d'un fort effet excitorépulsif de ce composé sur *An. gambiae* (Darriet *et al.*, 2005b). De plus, ce composé s'est avéré aussi efficace sur les moustiques sensibles d'*An. gambiae* que sur ceux résistants aux pyréthriinoïdes (*Kdr*). Une légère baisse d'efficacité du chlorpyrifos-méthyl a toutefois été observée sur des souches de *Cx. quinquefasciatus* résistants aux carbamates et aux organophosphorés (mutation *Ace.1<sup>R</sup>*) (Darriet & Hougard, 2003a). Sur *Ae. aegypti*, cette mutation n'a jamais été mise en évidence et la probabilité de voir apparaître cette résistance est pratiquement nulle car cela nécessiterait un double événement mutationnel (Weill *et al.*, 2004). Les mécanismes de résistance connus aux organophosphorés chez *Ae. aegypti* sont dus à une surproduction ou à une amélioration des propriétés catalytiques des enzymes (estérases et/ou glutathion-S-transférases) intervenant dans la dégradation de ces molécules (Hemingway & Ranson, 2000).

<sup>11</sup> Dose diagnostique : dose qui correspond à 2 fois la DL100 observée sur la souche sensible de référence.

Des études menées en cases expérimentales en Côte d'Ivoire ont montré un taux de mortalité de 70 % sur *An. gambiae* avec l'utilisation de moustiquaires imprégnées de chlorpyrifos-méthyl à 250 mg/m<sup>2</sup> (Asidi *et al.*, 2004). La station expérimentale où s'est déroulée cette étude se situait dans une zone rizicole proche de la ville de Bouaké dans le centre de la Côte d'Ivoire, où *An. gambiae* se caractérisait par une prévalence de la mutation *Ace1<sup>R</sup>* (résistance aux organophosphorés et carbamates) d'environ 40 % (N'guessan *et al.*, 2003). Cette étude a montré que le chlorpyrifos-méthyl restait efficace sur les anophèles vecteurs de paludisme et ceci malgré la présence d'une proportion relativement élevée de moustiques résistants.

Il existe sur le marché de nombreuses formulations en concentré émulsifiable (EC) et des spécialités commerciales adaptées pour les pulvérisations ultra-bas volume (ULV). Le chlorpyrifos-méthyl est validé par l'OMS pour le traitement spatial contre les mouches (WHO, 2006a). Ses spécificités à la fois excitorépulsives et létales à l'encontre des moustiques adultes en font un insecticide de choix à utiliser dans le domaine de la santé publique. Le chlorpyrifos-méthyl a été notifié dans la Directive européenne Biocides 98/8/CE mais aucun dossier d'homologation n'a été déposé dans les délais fixés (30/04/2006). Suite à cela, aucune intention de dépôt de dossier en dernier recours n'a été adressée dans les délais fixés (14/09/2006). Ainsi, depuis cette dernière date, cette molécule n'est plus autorisée.

### 3.2.2. Le pyrimiphos-méthyl (Classe III)

Formule chimique : O-[2-(diéthylamino)-6-méthyl-4-pyrimidinyl] O,O-diméthyl phosphorothioate. Comme le chlorpyrifos-méthyl, ce composé appartient au groupe chimique des organophosphorés qui inhibent l'acétylcholinestérase, une enzyme intervenant dans la régulation de l'influx nerveux (Aldridge, 1950). Cet insecticide est considéré comme peu dangereux pour les mammifères avec une DL<sub>50</sub> pour le rat par ingestion de 1 414 mg/kg (Tomlin, 2000).

Le pyrimiphos-méthyl est un insecticide communément utilisé dans la lutte contre les moustiques adultes. Au laboratoire, la sensibilité au pyrimiphos-méthyl de populations sauvages d'*Ae. aegypti* et d'*Ae. albopictus* de Singapour a été comparée à des souches de référence sensibles appartenant à ces deux espèces. Les résultats ont montré que *Ae. aegypti* et *Ae. albopictus* n'avaient pas développé de mécanisme de résistance à ce composé et ce, malgré son utilisation pendant plus de neuf ans dans des programmes de LAV (Ping *et al.*, 2001).

A la dose de 1 g/m<sup>2</sup>, cet adulticide utilisé en imprégnation de moustiquaires a entraîné des mortalités de 100 % sur *An. gambiae* et *Cx. quinquefasciatus* (Kolaczinski *et al.*, 2000). Toutefois, sept mois après l'imprégnation, les mortalités n'étaient plus que de 5 % sur ces deux mêmes espèces de moustiques. La faible rémanence du pyrimiphos-méthyl est due à sa tension de vapeur élevée qui le diffuse rapidement dans l'atmosphère ambiante. En Gambie, des moustiquaires imprégnées de pyrimiphos-méthyl (à 1 g/m<sup>2</sup>) ont entraîné des mortalités proches de 100 % sur *An. gambiae* mais seulement sur une période de trois mois (Miller *et al.*, 1991). Ces expériences ont montré que les doses élevées d'organophosphorés en font des insecticides peu adaptés pour le traitement des moustiquaires, dans la mesure où ils pourraient entraîner des effets indésirables à ces concentrations. En aspersion intradomiciliaires (traitement des murs et plafonds d'habitations), l'OMS recommande son utilisation aux doses de 1 à 2 g/m<sup>2</sup> (WHO, 2006a). Ce composé est également préconisé par l'OMS pour les pulvérisations spatiales dans les zones urbaines et rurales. Les doses recommandées sont de 230 à 330 g/ha de substance active lorsque les nébulisations sont faites à froid. Les nébulisations à chaud demandent moins d'insecticide puisque les concentrations préconisées sont de 180 à 200 g/ha de substance active (WHO, 2006a).

Récemment, le pyrimiphos-méthyl utilisé en association avec le *Bti* a fait l'objet d'une étude à Singapour sur *Ae. aegypti* (Chung *et al.*, 2001). La formulation concentré émulsifiable (EC) du pyrimiphos-méthyl mélangée à la suspension concentrée (SC) du *Bti* a été pulvérisée à l'aide d'un thermonébulisateur aux doses de 100 g/ha de pyrimiphos-méthyl et de 150 L/ha de *Bti*. Les résultats de l'étude ont montré que le pyrimiphos-méthyl seul ne possède que peu d'efficacité sur les larves d'*Ae. aegypti* alors que son efficacité sur les adultes est particulièrement bonne. Avec le *Bti*, les larves seules étaient éliminées des gîtes. Le mélange du pyrimiphos-méthyl et du *Bti* a permis de détruire efficacement à la fois les larves et les adultes de moustiques. Seul ou en association avec un biolarvicide, le pyrimiphos-méthyl pourrait montrer d'intéressantes potentialités dans la lutte contre *Ae. aegypti* et *Ae. albopictus*. Le pyrimiphos-méthyl a été notifié dans la Directive européenne Biocides 98/8/CE mais aucun dossier d'homologation n'a été déposé dans les délais fixés (30/04/2006). Suite à cela, aucune intention de dépôt de dossier en dernier recours n'a été adressée dans les délais fixés (11/07/2006). Ainsi, depuis cette dernière date, cette molécule n'est plus autorisée.

### 3.2.3. Le naled (Classe II)

Formule chimique : 1,2-dibromo-2,2-dichlorovinyl diméthyl phosphate. Comme le chlorpyrifos-méthyl, ce composé appartient au groupe chimique des organophosphorés qui inhibent l'acétylcholinestérase, une enzyme intervenant dans la dégradation de l'acétylcholine au niveau synaptique (Aldridge, 1950). Ce composé agit principalement par contact et par ingestion. Le naled est considéré comme modérément dangereux pour les mammifères avec une DL<sub>50</sub> pour le rat par ingestion de 430 mg/kg (Tomlin, 2000).

Le naled est efficace sur de nombreux insectes (mouches, moustiques, simulies, blattes, puces, tiques, etc.). Aux Etats-Unis, ce composé est recommandé par l'Agence de Protection de l'Environnement (US EPA) pour la lutte contre les ravageurs des cultures et pour le contrôle des moustiques. Ce composé est préconisé par l'OMS en pulvérisations spatiales (224 g/ha) et intradomiciliaires (400 mg/m<sup>2</sup>) pour le contrôle des mouches (WHO, 2006a).

Le naled semble être aussi efficace sur *Ae. albopictus* que sur *Ae. aegypti* (Robert & Olson, 1989). Aux Etats-Unis, son efficacité a été démontrée sur de nombreuses espèces de moustiques (*Culex sp*, *Aedes sp.* et *Anopheles sp.*) en pulvérisations

spatiales ultra bas volume (ULV) à la dose de 22,4 g/ha (Mount *et al.*, 1996 ; Linley & Jordan, 1992). A noter toutefois, que quelques cas de résistance spécifique au naled ont été observés chez *Culex quinquefasciatus* en Amérique du Nord (Boike *et al.*, 1979). Il existe des formulations spécialement adaptées pour la lutte contre les moustiques, notamment pour les pulvérisations spatiales ULV (DIBROM<sup>®</sup>, TRUMPET<sup>®</sup>). Le naled a été notifié dans la Directive européenne Biocides 98/8/CE et un dossier d'homologation a été déposé dans les délais fixés (30/04/2006). Il peut donc continuer à être utilisé en attendant l'évaluation de son dossier d'homologation par la Commission européenne.

### 3.2.4. Le pyrèthre (classe II)

Pas de formule chimique propre : Le pyrèthre est un mélange composé de 6 esters organiques (pyréthrine I + pyréthrine II + cinérine I + cinérine II + jasmolin I + jasmolin II) dérivés des fleurs de *Chrysanthemum cinerariaefolium*, qui appartient à la famille des Composées. La combinaison de ces six composants explique les propriétés létales et *Knock down\** (KD) importantes du pyrèthre. Comme les pyréthrinoïdes, ce composé agit en perturbant la cinétique d'inactivation du canal sodium, entraînant ainsi la paralysie puis la mort de l'insecte (Lund & Narahashi, 1983). Tout en ayant une activité insecticide sur un grand nombre d'insectes (Silcox & Roth, 1994), le pyrèthre ne présente qu'une faible toxicité pour les mammifères (Satelle & Yamamoto, 1988) et se dégrade rapidement dans l'environnement (Katsuda, 1999).

L'OMS recommande l'utilisation du pyrèthre sur les puces directement dans les chambres à coucher et la literie à la dose de 2 g/L. En shampoing, le pyrèthre associé à un synergiste (PBO) peut être également appliqué sur les animaux à la dose de 20 g/L (WHO, 2006a).

Des tests de sensibilité au pyrèthre sont actuellement en cours de réalisation sur des moustiques d'*An. gambiae* sensibles et résistants aux pyréthrinoïdes, dans le cadre des activités insecticides du Centre Collaborateur de l'OMS au laboratoire de Lutte contre les Insectes Nuisibles (LIN/IRD) de Montpellier. Sur *Ae. aegypti* des études de sensibilité seront prochainement entreprises dans le cadre d'un projet de recherche sur les nouveaux composés insecticides, déposé à l'Agence française de sécurité sanitaire de l'environnement et du travail (Afsset). De même sur le terrain, des évaluations du pyrèthre sont en cours de réalisation sous l'égide de l'OMS. Ces études concernent

l'efficacité de ce composé en imprégnation de moustiquaires, en aspersion intradomiciliaires et en traitement spatial.

En dépit de la longue histoire des pyréthrine naturelles et du nombre toujours croissant d'insectes résistants aux pyréthrinoïdes (mutation *Kdr*), peu de cas de résistance au pyrèthre ont été rapportés (Cochran, 1995). Le fait que le pyrèthre soit constitué de plusieurs isomères pourrait être un atout en termes de sélection de la résistance. Ce composé se présente donc comme un alternatif prometteur pour le contrôle des moustiques adultes d'*Ae. aegypti* devenus résistants aux pyréthrinoïdes. Le pyrèthre a été notifié dans la Directive européenne Biocides 98/8/CE et aucun dossier d'homologation n'a été déposé dans les délais fixés (30/04/2006). Suite à cela, une intention de dépôt de dossier en dernier recours a été adressée dans les délais fixés (14/09/2006). Ainsi, cette molécule peut continuer à être utilisée en attendant le dépôt effectif d'un dossier d'homologation, dont la date limite a été fixée au 30/04/2008.

### 3.2.5. L'étofenprox (Classe U)

Formule chimique : 1-[[2-(4-éthoxyphényl)-2-méthylpropoxy]méthyl]-3-phénoxybenzène. Ce composé qui appartient à la famille chimique des pseudopyréthrinoïdes (absence de liaison ester) agit en perturbant la cinétique d'inactivation du canal sodium, entraînant la paralysie puis la mort de l'insecte (Lund & Narahashi, 1983). Cet insecticide est sans danger pour les mammifères avec une DL<sub>50</sub> pour le rat par ingestion supérieure à 42 880 mg/kg (Tomlin, 2000). C'est d'ailleurs l'un des rares insecticides pyréthrinoïdes classé U par l'OMS.

L'étofenprox est un insecticide recommandé dans la lutte contre les moustiques depuis plus de 15 ans. Au Burkina Faso, le traitement des maisons à la dose de 1 g/m<sup>2</sup> avait entraîné par rapport au témoin, une diminution des taux d'entrées des anophèles dans les maisons de 70 %. De même, la présence de l'insecticide dans les habitations provoquait une exophilie induite de 94 %. Les effets à la fois dissuasif et irritant de l'étofenprox provoquent une forte diminution du nombre de moustiques qui entrent dans les maisons tout en repoussant vers l'extérieur ceux qui subissent l'action de l'insecticide. Au cours de cette étude, la mortalité d'*An. gambiae* et d'*An. funestus* avait été de 48 % (Darriet, 1991). L'OMS préconise désormais l'utilisation de l'étofenprox en

aspersions intradomiciliaires à des doses comprises entre 100 et 300 mg/m<sup>2</sup> (WHO, 2006).

A la dose de 25 mg/m<sup>2</sup> en imprégnation de moustiquaires, l'étofenprox ne possède qu'un faible effet létal avec 30 % seulement de moustiques morts (Lemasson & Lechouarn, 1992). Par contre l'effet dissuasif est toujours aussi important avec une limitation du nombre de moustiques qui entrent dans les maisons de 83 %. Cette étude montre une fois encore la forte action insectifuge de l'étofenprox, action d'évitement qui se traduit par un contact limité du moustique avec les substrats traités et donc des taux de mortalité relativement faibles. Cet effet insecticide faible doublé d'une action insectifuge forte n'est pas sans rappeler le mode d'action de la perméthrine. L'OMS recommande l'imprégnation des moustiquaires à la dose de 200 mg/m<sup>2</sup> (WHO, 2006a).

En traitement spatial également, l'OMS préconise son utilisation en ULV à froid ou à chaud aux doses de 10 à 20 g/ha de substance active. L'absence de liaison ester de l'étofenprox pourrait être un avantage en terme de gestion de la résistance dans la mesure où il serait moins facilement dégradé par les enzymes de détoxification de type estérases.

L'étofenprox étant un insecticide possédant une toxicité remarquablement faible sur les mammifères - bien inférieure à celle de la perméthrine -, son usage est polyvalent et s'étend de la pulvérisation à l'intérieur des habitations à l'imprégnation des moustiquaires en passant par les pulvérisations spatiales. L'étofenprox se trouve dans le commerce principalement sous les formes d'émulsion dans l'eau (EW), de poudre mouillable (WP) et de concentré émulsifiable (EC). L'étofenprox a été notifié dans la Directive européenne Biocides 98/8/CE et un dossier d'homologation a été déposé dans les délais fixés (30/04/2006). Il peut donc continuer à être utilisé en attendant l'évaluation de son dossier d'homologation par la Commission européenne.

### **3.3. Les moustiquaires imprégnées d'insecticides**

Depuis plus de vingt ans, les moustiquaires imprégnées d'insecticides sont recommandées pour lutter contre les vecteurs du paludisme. Les pyréthrinoïdes sont les seuls insecticides recommandés par l'OMS pour les imprégnations, compte tenu de leur rapidité d'action, de leur fort pouvoir répulsif et irritant vis-à-vis des moustiques et de leur

faible toxicité pour l'homme (Zaim *et al.*, 2000). Une moustiquaire imprégnée d'un pyréthrianoïde tue le moustique d'autant plus vite que l'effet KD\* de l'insecticide est puissant. De surcroît, l'effet irritant de l'insecticide repousse les moustiques vers l'extérieur des habitations, ce qui diminue grandement le contact entre l'homme et le vecteur (Darriet *et al.*, 1984). La moustiquaire imprégnée d'insecticide représente donc un moyen de protection personnel et/ou communautaire extrêmement simple tout en étant doté d'une grande efficacité (Carnevale *et al.*, 1988). A titre d'exemple, l'utilisation de moustiquaires imprégnées de pyréthrianoïdes a permis de réduire d'environ 60 % la mortalité infantile en Gambie (Alonso *et al.*, 1993). La diminution semble toutefois moins importante dans les zones à forte transmission que celles à transmission plus faible mais de façon générale, on estime que les moustiquaires imprégnées pourraient sauver annuellement 6 vies pour 1 000 habitants (Lengeler, 1998).

Les principaux insecticides pyréthrianoïdes recommandés par l'OMS (WHO, 2006a) pour les imprégnations de moustiquaires sont regroupés dans le tableau suivant :

Insecticides	Formulations	Dosage (mg/m <sup>2</sup> )
alpha-cyperméthrine	Suspension concentrée 10 %	20 à 40
cyfluthrine	Emulsion (huile dans l'eau) 5 %	50
deltaméthrine	Suspension concentrée 1 % Tablette soluble dans l'eau 25 %	15 à 25
étofenprox	Emulsion (huile dans l'eau) 10 %	200
lambda-cyhalothrine	Microcapsules en suspension 2,5 %	10 à 20
perméthrine	Concentré émulsifiable 10 %	500

La bifenthrine n'est pas incluse dans ce tableau mais les nombreuses évaluations conduites en laboratoire et sur le terrain ont montré que cet adulticide possédait une grande efficacité sur la plupart des moustiques nuisants et vecteurs de maladies (Hougard *et al.*, 2002 ; Hougard *et al.*, 2003 ; Chouaibou *et al.*, 2006). Une validation par l'OMS devrait être effectuée prochainement.

Depuis une quinzaine d'années environ, la résistance des moustiques aux pyréthriinoïdes s'étend à presque toutes les régions du monde et représente par conséquent une menace pour l'efficacité des programmes de LAV. La recherche d'insecticides de remplacement et de stratégies alternatives pour les moustiquaires est devenue une priorité et c'est dans cette optique que furent évalués en laboratoire et sur le terrain des mélanges composés de pyréthriinoïdes (bifenthrine, lambda-cyhalothrine) et d'organophosphorés (chlorpyrifos-méthyl) ou de carbamates (carbosulfan) (Guillet *et al.*, 2000 ; Corbel *et al.*, 2002 ; Darriet *et al.*, 2003b ; Hougard *et al.*, 2003 ; Asidi *et al.*, 2005). Bien que ces mélanges aient montré de relativement bonnes performances contre les moustiques résistants, les résultats ont montré que les propriétés excitorépusives des mélanges se renforçaient (effet additif) et généraient une diminution encore plus importante du temps de contact entre les moustiques et les moustiquaires traitées. Cette relation directe de cause à effet a pour conséquence de ne pas induire d'effet de synergie mais seulement un effet additif au niveau de la mortalité (Darriet *et al.*, 2005). Le comportement du moustique s'avère donc capital dans l'efficacité des insecticides à utiliser seuls ou en association sur les moustiquaires.

A ce jour, les études menées sur le terrain sur *An. gambiae* ont montré que les moustiquaires imprégnées étaient toujours efficaces en zones de résistance aux pyréthriinoïdes et ce en terme de protection personnelle (Darriet *et al.*, 2000 ; Corbel *et al.*, 2004a) et collective (Henry *et al.*, 2005). Toutefois, il est actuellement très difficile de présager de l'efficacité des moustiquaires imprégnées de pyréthriinoïdes dans les zones où les moustiques seront devenus multirésistants aux insecticides (présence simultanée de mécanismes de résistance moléculaire et métabolique).

#### 4. Autres molécules testées récemment en santé publique

Les molécules décrites ci-dessous possèdent des caractéristiques intéressantes, notamment dans leur capacité à ne pas induire de résistance croisée avec les pyréthriinoïdes et les organophosphorés. Toutefois, leur efficacité intrinsèque parfois limitée et/ou leur relative toxicité sur l'homme en font des composés difficiles à utiliser dans des programmes de LAV, en particulier contre les *Aedes*.

## 4.1. Le carbosulfan (classe II)

Formule chimique : 2,3-dihydro-2,2-diméthyl-7-benzofuranyl [(dibutylamino)thio] méthylcarbamate. Ce composé appartient au groupe chimique des carbamates qui inhibent l'acétylcholinestérase, une enzyme intervenant dans la régulation de l'influx nerveux. Cet insecticide est considéré par l'OMS comme modérément dangereux sur les mammifères avec une DL<sub>50</sub> pour le rat par ingestion de 250 mg/kg pour le mâle et de 185 mg/kg pour les femelles (Tomlin, 2000). La particularité du carbosulfan vient du fait qu'il se dégrade avec le temps en carbofuran, un métabolite de la famille des carbamates beaucoup plus toxique pour les mammifères et l'environnement. La DL<sub>50</sub> du carbofuran sur le rat par ingestion est de 8 mg/kg, soit une toxicité 31 fois plus élevée sur les mâles et 23 fois supérieure sur les femelles.

De nombreuses études ont été réalisées avec ce composé en santé publique. En aspersions intradomiciliaires, le carbosulfan utilisé à la dose de 1 g/m<sup>2</sup> a entraîné une mortalité de 94 % d'*An. gambiae* entrant dans les maisons (Darriet, 1998). La mortalité observée était rapide (90 % de moustiques morts au moment de la capture) et seulement 4 % des moustiques sont morts après 24 heures d'observation. Globalement, une réduction de 75 % du nombre d'anophèles entrant dans les maisons a été observée par rapport aux habitations qui n'avaient pas reçu de traitement insecticide (témoin). En imprégnation de moustiquaires, le carbosulfan utilisé à la dose de 300 mg/m<sup>2</sup> a induit une mortalité d'*An. gambiae* de 90 % ainsi qu'une réduction des taux de gorgement de 76 %. Concernant *Cx. quinquefasciatus*, 99 % des moustiques ont été retrouvés morts au moment de la capture et les taux de gorgement ont été réduits de 80 % (Guillet *et al.*, 2001). Une autre étude réalisée en Côte d'Ivoire a montré que le carbosulfan en imprégnation de moustiquaires possédait des propriétés insecticides remarquables sur des moustiques d'*An. gambiae* et de *Cx. quinquefasciatus* résistants aux insecticides (Kolaczinski *et al.*, 2000).

De même, les imprégnations de rideaux à la dose de 200 mg/m<sup>2</sup> de carbosulfan ont permis de réduire les taux d'entrée d'*An. gambiae* dans les habitations de 84 %. Dans des maisons différentes où les rideaux étaient imprégnés de perméthrine à la dose de 1 g/m<sup>2</sup>, ces réductions d'entrées étaient seulement de 64 % (Fanello *et al.*, 2003). Comme pour les aspersions intradomiciliaires, le carbosulfan utilisé en imprégnation de rideaux possède un effet dissuasif qui limite considérablement le nombre de moustiques qui entrent dans les habitations traitées.

Malgré l'efficacité remarquable du carbosulfan sur les moustiques vecteurs, sa toxicité intrinsèque et surtout sa transformation en carbofuran, le rendent très peu utilisable pour une lutte larvaire ou spatiale contre les vecteurs d'arboviroses. Il n'en reste pas moins un insecticide efficace à manier avec beaucoup de précautions. Les

formulations utilisées en santé publique sont principalement les poudres mouillables (WP) pour les pulvérisations intradomiciliaires et les suspensions concentrées (SC) pour le traitement des tissus et des moustiquaires. Ce composé ne figure pas dans la liste des insecticides notifiés dans la Directive européenne Biocides 98/8/CE et ne peut donc plus être utilisé depuis le 01/09/2006.

## 4.2. L'indoxacarb (pas de classification OMS)

Formule chimique : Méthyl (S)-7-chloro-2,5-dihydro-2-[[méthoxycarbonyl][4-(trifluoro-méthoxy)phényl] amino]carbonyl]-indéno[1,2-e][1,3,4]oxadiazine-4a(3H)-carboxylate. Ce composé est un insecticide de la famille des oxadiazines agissant par contact et par ingestion. Son mode d'action se situe au niveau des canaux sodiques (Harder *et al.*, 1996 ; Wing *et al.*, 1998 ; Wing *et al.*, 2000 ; Lapied *et al.*, 2001) et de certains récepteurs nicotiniques (Zhao *et al.*, 1999 ; Narahashi, 2002). Au niveau de l'insecte, l'indoxacarb est décarbométhoxylé en DCJW qui constitue la forme active de l'insecticide (Wing *et al.*, 1998). La DL<sub>50</sub> orale de l'indoxacarb sur les rats mâles est de 1 732 mg/kg et de 268 mg/kg sur les rats femelles (Tomlin, 2000).

Cet insecticide possède un large spectre d'action (Harder *et al.*, 1996) et montre une bonne efficacité sur plusieurs espèces d'insectes nuisibles notamment les mouches domestiques (Sugiyama *et al.*, 2001). Concernant les moustiques, la CL<sub>50</sub> de l'indoxacarb est de 0,007 9 mg/L sur les larves d'*Ae. aegypti* et de 0,054 mg/L sur les larves d'*An. gambiae* (Paul *et al.*, 2006). En applications topiques sur des femelles d'*An. gambiae*, les DL<sub>50</sub> et DL<sub>95</sub> sont respectivement de 7,89 et 102,75 ng/mg par femelle. L'indoxacarb ne semble pas posséder de propriétés excitorépulsives et son action insecticide est retardée (délai de 24 heures et plus pour voir apparaître de la mortalité). Les tests en cônes OMS et les tests tunnels réalisés sur des moustiquaires imprégnées ont montré que l'indoxacarb tuait 60 à 70 % des adultes pour des doses de 250 à 500 mg/m<sup>2</sup> (N'guessan *et al.*, 2007a). Seule une dose de 1 000 mg/m<sup>2</sup> permettait d'obtenir 100 % de mortalité. L'indoxacarb ne montre cependant pas de résistance croisée avec les insecticides usuels (carbamates, organophosphorés et pyréthri-noïdes). A noter que ce composé ne synergise pas l'action des pyréthri-noïdes (N'guessan *et al.*, 2007a). Aucune donnée d'efficacité sur le terrain n'est actuellement disponible pour ce composé. Son effet retardé associé à des

doses d'insecticides élevées est un critère ne favorisant pas son utilisation prochaine pour la lutte contre les *Aedes*.

L'indoxacarb est principalement commercialisé sous les formes de poudre mouillable (WP) et de suspension concentrée (SC). Ce produit n'a pas été notifié dans le cadre de la Directive européenne Biocides 98/8/CE et ne peut donc plus être utilisé depuis le 01/09/2006.

### 4.3. Le chlorfénapyr (classe II)

Formule chimique : 4-bromo-2-(4-chlorophényl)-1-(éthoxyméthyl)-5-(trifluorométhyl)-1H-pyrrole-3-carbonitrile. Le chlorfénapyr est un insecticide de la famille des pyrroles. Il agit par contact et par ingestion (Tomlin, 2000) en empêchant la synthèse de l'ATP au niveau des mitochondries (Anon, 1995). Ce composé nécessite toutefois une activation *in vivo* par des enzymes de détoxification pour agir sur sa cible (Black *et al.*, 1994). La DL<sub>50</sub> orale du chlorfénapyr sur les rats mâles est de 441 mg/kg et de 1 152 mg/kg sur les rats femelles (Tomlin, 2000).

Cet insecticide est utilisé pour lutter contre plusieurs espèces d'insectes et d'acariens nuisibles, notamment contre la mouche des cornes (Lovell *et al.*, 1990 ; Pimprale *et al.*, 1997 ; Sheppard & Joyce, 1998 ; Guglielmone *et al.*, 2000). En laboratoire, la CL<sub>50</sub> du chlorfénapyr a été estimée à 0,001 6 mg/L sur les larves d'*Ae. aegypti* (Paul *et al.*, 2006). Une étude menée sur des adultes d'*An. gambiae* a montré que des moustiquaires imprégnées de chlorfénapyr à des doses de 100 et 250 mg/m<sup>2</sup> induisaient une mortalité équivalente ou supérieure à celle de la perméthrine (N'guessan *et al.*, 2007b). Toutefois, ce composé n'a pas montré de propriétés excitorépulsives sur les moustiques et la mortalité enregistrée n'est apparue qu'entre 48 h et 72 h après l'exposition (mortalité retardée). Le chlorfénapyr ne montre pas de résistance croisée avec les insecticides conventionnels tels que les pyréthriinoïdes, les carbamates et les organophosphorés (N'guessan *et al.*, 2007b). L'absence d'effet irritant et la mortalité différée du chlorfénapyr (type indoxacarb) font de cet insecticide un candidat peu prometteur pour la lutte contre les vecteurs d'arboviroses.

Le chlorfénapyr est principalement commercialisé sous les formes concentrées émulsifiables et suspensions concentrées (Tomlin, 2000). Contrairement aux autres

molécules, ce composé a été notifié dans le cadre de la Directive européenne Biocides 98/8/CE et un dossier d'homologation a été déposé dans les délais fixés (30/04/2006). Il peut donc continuer à être utilisé en attendant l'évaluation de son dossier d'homologation par la Commission européenne.

#### **4.4. Le dinotéfuran (pas de classification OMS)**

Formule chimique : N-méthyl-N'-nitro-N''-[(tétrahydro-3-furanyl)méthyl]guanidine.

Le dinotéfuran découvert en 1998 est un insecticide de la famille des néonicotinoïdes qui agit par contact et par ingestion (Kodaka *et al.*, 1998). C'est un agoniste de l'acétylcholine qui perturbe les récepteurs nicotiques synaptiques au niveau du système nerveux central (Tomizawa & Yamamoto, 1993 ; Tomizawa & Casida 2005). La DL<sub>50</sub> du dinotéfuran sur les rats par ingestion est de 2 804 mg/kg (Tomlin, 2000).

Les néonicotinoïdes sont utilisés pour lutter contre plusieurs espèces d'insectes nuisibles et notamment les blattes (Kiryama & Nishimura 2002 ; Elbert *et al.*, 1998 ; Tomlin 2000). En laboratoire, les CL<sub>50</sub> du dinotéfuran sur les larves d'*An. gambiae*, d'*Ae. aegypti* et de *Cx. quinquefasciatus* ont été estimées respectivement à 0,17 mg/L, 0,21mg/L et 0,34 mg/L. En applications topiques sur des femelles d'*An. gambiae*, d'*Ae. aegypti* et de *Cx. quinquefasciatus*, les DL<sub>50</sub> du dinotéfuran sont de 0,18 ng s.a./mg, 7,14 ng s.a./mg et 13,75 s.a./mg de moustique (Corbel *et al.*, 2004b). Bien que le dinotéfuran présente une efficacité 30 à 100 fois plus faible que les organophosphorés et les pyréthriinoïdes sur les moustiques sensibles, il ne montre cependant pas de résistance croisée avec les insecticides couramment utilisés en santé publique. A ce jour, aucune étude de terrain n'a été réalisée sur l'efficacité de ce composé sur les moustiques.

Les formulations disponibles sont des microcapsules en suspension (CS), des émulsions dans l'eau (EW), des gels et des sprays directement utilisables. Ce composé n'a pas été notifié dans la Directive européenne Biocides 98/8/CE et ne peut donc plus être utilisé depuis le 01/09/2006.

## **5. Conclusion**

Dans cette étude, nous avons dressé une synthèse bibliographique des molécules insecticides déjà utilisées en santé publique (deltaméthrine, malathion, fénitrothion et *Bti*) ainsi que de celles ayant fait l'objet d'études récentes dans la lutte contre les moustiques. Pour lutter contre les larves de moustiques, quatre composés montrent des potentialités intéressantes : le spinosad, le pyriproxyfène, le méthoprène et la cyromazine. Pour les adulticides, cinq autres composés ont retenu notre attention : le chlorpyrifos-méthyl, le pyrimiphos-méthyl, le naled, le pyrèthre et l'étofenprox.

Les larvicides sélectionnés possèdent de nombreux avantages, à savoir peu ou pas de toxicité pour l'homme et l'environnement, des doses efficaces faibles, pas ou peu de résistance croisée avec les autres insecticides et des temps d'activité/efficacité souvent supérieurs aux composés habituellement utilisés en santé publique. Mis à part la cyromazine et le méthoprène, tous les larvicides présentés ont été notifiés dans le cadre de la Directive européenne Biocides 98/8/CE et un dossier d'homologation ou une intention de dépôt d'un dossier d'homologation a été déposé. Ils pourront donc continuer à être utilisés en France pour lutter contre les vecteurs d'arboviroses, sous réserve que la Commission européenne se prononce pour une autorisation de chacune des molécules après examen de leur dossier d'homologation.

Concernant le spinosad, son statut de bio-insecticide est un atout aussi important que précieux pour son utilisation dans les situations écologiques fragiles. De surcroît, sa bonne efficacité sur les larves de moustiques à la fois sensibles et résistantes aux insecticides en fait un insecticide de choix pour la LAV. A signaler toutefois, qu'en absence de données, ce composé n'est pas recommandé par l'OMS pour le traitement des eaux de boisson. Nous avons également montré que le méthoprène et le pyriproxyfène possédaient une très faible toxicité pour les mammifères et une efficacité remarquable sur les populations pré-imaginales\*\* de moustiques. Ces composés sont d'ailleurs recommandés par l'OMS pour le traitement des eaux de boisson. De surcroît, le pyriproxyfène est conditionné sous la forme de spécialités commerciales qui utilisent la pointe de la technologie en matière de formulation en permettant une libération progressive de la substance active (jusqu'à six mois). Ceci en fait donc un composé à privilégier pour lutter contre les *Aedes* en particulier dans les citernes d'eau de stockage. A noter toutefois, le peu d'activité du pyriproxyfène et du méthoprène sur les stades larvaires de moustiques ce qui peut représenter un obstacle sur le plan opérationnel (les

communautés pouvant douter de l'efficacité du produit si les larves persistent dans les gîtes après le traitement). Enfin, nous avons vu que la cyromazine se caractérisait par un mode d'action aussi complexe qu'original, en agissant à la fois sur la synthèse de la cuticule de la larve de moustique et sur la synthèse de l'ADN.

Comme pour les larvicides énumérés ci-dessus, les adulticides sélectionnés dans ce mémoire présentent des avantages en termes de toxicité et d'efficacité sur les moustiques. Si tous les adulticides présentés dans cette synthèse bibliographique ont été notifiés dans la Directive européenne Biocides 98/8/CE, en revanche les dossiers du malathion, du chlorpyrifos-méthyl et du pyrimiphos-méthyl n'ont pas été déposés dans les délais fixés (30/04/2006) et aucune intention de dépôt d'un dossier d'homologation en dernier recours n'a été adressée dans les délais fixés (14/09/2006 pour le malathion et le chlorpyrifos-méthyl et 11/07/2006 pour le pyrimiphos-méthyl). Cela représente un obstacle en matière de LAV dans la mesure où ces insecticides présentent de réelles potentialités contre les moustiques vecteurs de maladies humaines.

Nous avons montré par exemple que le chlorpyrifos-méthyl était un insecticide classé U et qu'il était validé par l'OMS pour le traitement spatial contre les mouches. Ses spécificités à la fois excito-répulsives et létales à l'encontre des moustiques adultes et son activité insecticide puissante sur les moustiques résistants aux organophosphorés pourraient en faire un insecticide de choix dans la lutte contre les vecteurs de dengue et de Chikungunya. A signaler également que le pyrimiphos-méthyl s'est montré efficace dans de nombreux pays d'Asie du Sud-est en pulvérisations spatiales à froid ou à chaud, contre les vecteurs d'arboviroses. Enfin, le naled est efficace sur de nombreux insectes (mouches, moustiques, simulies, blattes, puces, tiques, etc.). Aux Etats-Unis, ce composé est recommandé par l'Agence de protection de l'environnement (US EPA) pour la lutte contre les ravageurs des cultures et pour le contrôle des moustiques. Le naled est également l'un des rares organophosphorés notifiés et pour lesquels un dossier d'homologation a été déposé dans le cadre de la Directive européenne Biocides 98/8/CE. Parmi les autres candidats, le pyrèthre montre également d'intéressantes potentialités pour la LAV. Premièrement, en dépit du nombre toujours croissant d'insectes résistants aux pyrèthroïdes (mutation *Kdr*), peu de cas de résistance à ce composé ont été rapportés. Le fait que le pyrèthre soit constitué de plusieurs isomères pourrait être un atout en terme de sélection de la résistance. Ce composé naturel très

volatile et à fort effet KD\* apparaît donc comme prometteur pour le contrôle des moustiques adultes d'*Ae. aegypti* en période épidémique. Enfin, nous avons montré que l'étofenprox était un insecticide possédant une toxicité exceptionnellement faible sur les mammifères (l'un des rares pyréthrinoïdes de classe U), et qu'il pourrait être utilisé de manière plus polyvalente en pulvérisation à l'intérieur des habitations, en imprégnation de moustiquaires et en traitement spatial.

En termes de protection individuelle et/ou communautaire, la moustiquaire imprégnée d'insecticide représente le moyen de lutte contre les vecteurs le plus simple tout en étant doté d'une grande efficacité. A titre d'exemple, l'utilisation des moustiquaires imprégnées de pyréthrinoïdes a permis de réduire d'environ 60 % la mortalité infantile due au paludisme en Gambie. Pour les vecteurs de dengue et de Chikungunya, même si les espèces *Ae. aegypti* et *Ae. albopictus* présentent un pic d'agressivité maximum en début et en fin de journée, les moustiquaires imprégnées d'insecticides protègent les nourrissons et les jeunes enfants qui dorment à ce moment de la journée et pour lesquels les produits répulsifs ne sont pas conseillés (pas de répulsif avant 30 mois, BEH, 2006).

Dans cette synthèse bibliographique, nous avons également rapporté les avantages et les inconvénients de quatre molécules insecticides récemment évaluées en santé publique à savoir le carbosulfan, l'indoxacarb, le chlorfénapyr et le dinotéfuran. Ces quatre composés ont montré des potentialités intéressantes notamment dans leur capacité à ne pas montrer de résistance croisée avec les pyréthrinoïdes, les organophosphorés et les carbamates. Toutefois leurs propriétés intrinsèques (toxicité sur l'homme, doses efficaces fortes, absence d'effet KD\*) en font des composés difficiles à utiliser dans des programmes de LAV, en particulier contre les *Aedes*.

Pour conclure, les larvicides et des adulticides développés dans cette synthèse bibliographique peuvent être considérés comme des alternatives prometteuses pour les opérations de démoustication. Toutefois, l'efficacité de certains de ces composés est encore mal connue dans des conditions normales d'utilisation (terrain) et c'est pour cette raison qu'un projet intitulé « *Evaluation de nouveaux candidats insecticides et de nouvelles stratégies de lutte contre les moustiques vecteurs d'arboviroses* » a été

---

déposé auprès de l'Afsset par le laboratoire de Lutte contre les Insectes Nuisibles de Montpellier (LIN/IRD) en collaboration avec le conseil général de la Martinique. A l'issue de ce projet, des données d'efficacité en laboratoire et sur le terrain seront obtenues pour les différents substituts sur des moustiques *d'Aedes aegypti* sensibles et résistants aux insecticides.

Notes :

\* Effet *knock down* : c'est l'effet de paralysie des muscles et du système nerveux des insectes entraînant leur mort, suite au contact avec des insecticides de la famille des pyréthrinoïdes.

\*\* "imaginal" vient de "imago" qui est la forme adulte d'un insecte. L'émergence imaginale est donc l'apparition d'insectes adultes à l'issue des mues imaginale (dernière mue qui fait passer l'insecte de l'état de nymphe à celui d'adulte).

## Bibliographie

- Aldridge W.N. 1950. Some properties of specific cholinesterase with particular reference to the mechanism of inhibition by diethyl *p*-nitrophenyl thiophosphate (E605) and analogues. *Biochemistry Journal*, 46 : 451-460.
- Alonso P.L., Lindsay, S.W., Armstrong-Schellenberg, J.R.M., Konteh, M., Keita, K., Marshall, C., Phillips, A., Cham, K. & Greenwood, B.M. 1993. A malaria control trial using insecticide-treated bed nets and targeted chemoprophylaxis in a rural area of The Gambia, West Africa. 5. Design and implementation of the trial. *Trans. Roy. Soc. Trop. Med. Hyg*, 87: 31-36.
- Amin, A.M. and White, G.B. 1984. Resistance potential of *Culex quinquefasciatus* against the insect growth regulators méthoprène and diflubenzuron. *Entomologia Experimentalis et applicata*, 36: 69-76.
- Anon, 1995. insecticide-miticide, American Cyanamid Company. Pages 1-20.
- Asidi A.N., N'Guessan R., Koffi A.A., Curtis C.F., Hougard J.M., Chandre F., Corbel V., Darriet F., Zaim M. & Rowland M.W. 2005. Experimental hut evaluation of bed nets treated an organophosphate (chlorpyrifos-methyl) or a pyrethroid (lambdacyhalothrin) alone and in combination against insecticide resistant *Anopheles gambiae* and *Culex quinquefasciatus* mosquitoes. *Malaria Journal*, 4: 25.
- Barjac (de). 1978. Une nouvelle variété de *Bacillus thuringiensis* très toxique pour les moustiques : *B. thuringiensis* var. *israelensis* sérotype H14. *Comptes Rendus de l'Académie des Sciences de Paris*, (série D), 286 : 797-800.
- BEH. 2006. *Anonyme Direction Générale de la Santé. Comment se protéger des piqûres de moustiques vecteurs de Chikungunya*. N° Hors série, Janvier 2006. <http://www.invs.sante.fr/beh/2006/>.
- Bel, Y., Wiesner, P. & Kayser, H. 2000. Candidate target mechanisms of the growth inhibitor cyromazine: studies of phenilalanine hydrolase, puparial amino acids and dihydrofolate reductase in dipterian insects. *Arch Insect Biochemistry Physiology*, 45: 69-78.
- Binnington, K.C. & Retnakaran, A. 1991. *Physiology of the insect epidermis*. Eds

Binnington, K.C. & Retnakaran, A., CSIRO, Australia, Melbourne.

Black, B.C., Hollingsworth, R.M., Ahammadsahib, K.I., Kukel, C.D. & Donovan, S. 1994. Insecticidal action and mitochondrial uncoupling activity of AC-303,630 and related halogenated pyrroles. *Pesticide biochemistry and physiology*, 50: 115-128.

Boike, A.H., Rathburn, J.R., Hallmon, C.F. & Cotterman, S.G. 1979. *Insecticide susceptibility levels of some Florida mosquitoes*. Proceedings of the Florida Anti-Mosquito Association. 62-67.

Bond, J.G., Marina, C.F. & Williams, T. 2004. The naturally derived insecticide spinosad is highly toxic to *Aedes* and *Anopheles* mosquito larvae. *Medical and Veterinary Entomology*, 18: 50-56.

Bregues, C., Hawkes, N.J., Chandre, F., Mc Carrolls, L., Duchon, S., Guillet, P., Manguin, S., Morgan, J.C. & Hemingway J. 2003. Pyrethroid and DDT cross-resistance in *Aedes aegypti* is correlated with novel mutations in the voltage-gated sodium channel gene. *Medical and Veterinary Entomology*, 17: 87-94.

Bret, B.L., Larson, L.L. Schoonover, J.R. Parks, T.C. & Thompson. G.D. 1997. Biological properties of spinosad. *Dow to Earth*, 52: 6-13.

Carnevale, P., Robert, V., Boudin, C., Halna, J.M., Pazart, L., Gazin, P., Richard, A., & Mouchet, J. 1988. La lutte contre le paludisme par des moustiquaires imprégnées de pyréthrinoides au Burkina Faso. *Bulletin de la Société de Pathologie Exotique*, 81: 832-846.

Charles, J.F. & de Barjac, H. 1983. Action des cristaux de *Bacillus thuringiensis* var. *israelensis* sur l'intestin moyen des larves d'*Aedes aegypti* L. en microscopie électronique. *Ann. Microbiol. (Institut Pasteur)*, 134A : 197-218.

Chouaibou, M., Simard, F., Chandre, F., Etang, J., Darriet, F. & Hougard, J.M. 2006. Efficacy of bifenthrin-impregnated bednets against *Anopheles funestus* and pyrethroid-resistant *Anopheles gambiae* in North Cameroon. *Malaria Journal*, 5: 77.

Chung, Y.K., S.G. Lam-Phua, Y.T. Chua, & R. Yatiman. 2001. Evaluation of biological and chemical insecticide mixture against *Aedes aegypti* larvae and adults by thermal fogging in Singapore. *Medical and Veterinary Entomology*, 15: 321-327.

- Cochran, D.G. 1995. *Insect resistance to pyrethrins and pyrethroids. In Pyrethrum flowers: production, chemistry, toxicology, and uses.* ed. J.E. Casida and G.B. Quistad. New York, NY ; Oxford, University Press: 234-248.
- Corbel, V., Darriet, F., Chandre, F. & Hougard, J.M. 2002. Insecticides mixtures for mosquito net impregnation against malaria vector. *Parasite*, 9: 255-259.
- Corbel, V., Chandre, F., Brengues, C., Akogbeto, M., Lardeux, F., Hougard, J.M. and Guillet, P. 2004a. Dosage dependent effects of permethrin-treated nets on the behaviour of *Anopheles gambiae* and the selection of pyrethroid resistance *Malaria Journal*, 3: 22.
- Corbel, V., Duchon, S., Zaim, M. & Hougard, J.M. 2004b. Dinotefuran: A Potential Neonicotinoid Insecticide Against Resistant Mosquitoes. *Journal of medical entomology*, 41: 712-717.
- Cornel, A.J., Stanich, A.M., McAbee, R.D. & Mulligan III, F.S. 2002. High level méthoprène resistance in the mosquito *Ochlerotatus nigromaculis* (Ludlow) in Central California. *Pesticides Management Science*, 58: 791-798.
- Corriveau, R., Philippon, B. & Yébakima, A. 2003. *La dengue dans les départements français d'Amérique.* IRD éditions, collection expertise collégiale, Institut de Recherche pour le Développement, Paris.
- Darriet, F., Robert V., Tho Vien N. & Carnevale P. 1984. *Evaluation de l'efficacité sur les vecteurs du paludisme de la perméthrine en imprégnation de moustiquaires intactes et trouées.* Document miméographié OMS, WHO/VBC/84.899 et WHO/MAL/84.1008 : 20 pages.
- Darriet, F. 1991. Evaluation sur le terrain de l'efficacité de trois pyréthrinoïdes dans le cadre de la lutte contre les vecteurs du paludisme. *Parassitologia*, 33 : 111-119.
- Darriet, F. 1998. *La lutte contre les moustiques nuisants et vecteurs de maladies.* Collection économie et développement, Coédition Karthala-ORSTOM : 114 pages
- Darriet, F., N'guessan, R., Koffi, A.A., Konan, L., Doannio J.M.C., Chandre, F. & Carnevale, P. 2000. Impact de la résistance aux pyréthrinoïdes sur l'efficacité des moustiquaires imprégnées dans la prévention du paludisme : résultats des essais en cases expérimentales avec la deltaméthrine SC. *Bulletin de la Société de Pathologie Exotique*,

93 :131-134.

- Darriet, F & Hougard J.M. 2003a. *Resistance profile of chlorpyrifos-methyl to vector mosquitoes*. DOC/LIN/07/03: 6 pages.
- Darriet, F., Corbel, V. & Hougard, J.M. 2003b. Efficacy of mosquito nets treated with a pyrethroid-organophosphorous mixture against Kdr- and Kdr+ malaria vector (*Anopheles gambiae*). *Parasite*, 10: 359-362.
- Darriet, F., S. Duchon, & J.M. Hougard. 2005a. Spinosad: a new larvicide against insecticide resistant mosquito larvae. *Journal of the American Mosquito Control Association*, 21: 495-496.
- Darriet, F., Hougard, J.M. & Corbel V. 2005b. Comportement d'*Anopheles gambiae* Kdr+ face à des moustiquaires bi-imprégnées d'insecticides pyréthrinoïdes et organophosphorés. *Bulletin de la Société de Pathologie Exotique*, 98: 201-204.
- Darriet, F & Corbel, V. 2006. Laboratory evaluation of pyriproxyfen and spinosad, alone and in combination, against *Aedes aegypti* mosquito larvae. *Journal of Medical Entomology.*, 43: 1190-1194.
- DowElanco. 1994. *Spinosad technical guide*. DowElanco, Indianapolis,IN.
- Elbert, A., Nauen, R. & Leicht, W. 1998. *Imidacloprid, a novel chloronicotinyl insecticide: biological activity and agricultural importance*. pp. 50-73. In I. Ishaaya and D. Degheele [eds.], *Insecticides with novel modes of action: mechanism and application*. Springer, Berlin, Germany.
- Estrada, J.G & Mulla M.S. 1986. Evaluation of two new new insect growth regulators against mosquitoes in laboratory. *Journal of the American Mosquito Control Association*, 2: 57-60.
- Fanello, C., Carneiro, I., Ilboudo-Sanogo, E., Cuzin-ouattara, N., Badolo, A. & Curtis C.F. 2003. Comparative evaluation of carbosulfan and permethrin impregnated curtains for preventing house-entry by the malaria vector *Anopheles gambiae* in Burkina Faso. *Medical and Veterinary Entomology*, 17: 333-338.
- Georghiou, G.P., Wirth, M., Tran, H., Saume, F., Knudsen, A.B. 1987. Potential for organophosphate resistance in *Aedes aegypti* in the Caribbean area and neighboring countries. *Journal of Medical Entomology.*, 24: 290-294.

- Goldberg L.H. & Margalit J. 1977. A bacterial spore demonstrating rapid larvicidal activity against *Anopheles sergentii*, *Uranotaenia unguiculata*, *Culex univittatus*, *Aedes aegypti* and *Culex pipens*. *Mosquito News*, 37: 355-358.
- Guglielmone, A.A., Volpogni, M.M., Scherling, N., Cobenas, M.M., Mangold, A.J., Anziani, O.S., Ioppolo, M. & Doscher, M. 2000. Chlorfenapyr ear tags to control *Haematobia irritans* (L.) (Diptera: Muscidae) on cattle. *Veterinary Parasitology*, 93: 77-82.
- Guillet, P., N'guessan, R., Darriet, F., Traoré-Lamizana, M., Chandre, F. & Carnevale, P. 2001. Combined pyrethroid and carbamate « two in one » treated mosquito nets: field efficacy against pyrethroid-resistant *Anopheles gambiae* and *Culex quinquefasciatus*. *Medical and Veterinary Entomology*, 15: 105-112.
- Gubler, D.J. 1998. Dengue and dengue hemorrhagic fever. *Clinical & Microbiology Review*, 11: 480-496.
- Gubler, D.J. 2004. Cities spawn epidemic dengue viruses. *Nature Medicine*, 10: 129-130.
- Harder, H.H., Riley, S.L., McCann, S.F. & Irving, S.N. 1996. *DPX-MP062 : a novel broad-spectrum, environmentally soft, insect control compound*. Proc. Brighton Crop. Prot. Conf. 449.
- Hemingway, J. & Ranson, H. 2000. Insecticide resistance in insect vectors of human disease. *Annual Review Entomology*, 45: 371-391.
- Henry, M.C., Assy, S., Rogier, C., Dossou-Yovo, J., Chandre, F., Guillet, P. & Carnevale, P. 2005. Protective efficacy of lambda-cyhalothrin treated nets in *Anopheles gambiae* pyrethroid resistance areas of Côte-d'Ivoire. *American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*, 73: 859-864.
- Hofte, H & Witeley, H.R. 1989. Insecticidal crystal proteins of *Bacillus thuringiensis*. *Microbiology review*, 53: 242-255.
- Hougaard, J.M., Duchon, S., Zaim M. & Guillet, P. 2002. Bifenthrin: A useful pyrethroid insecticide for treatment of mosquito nets. *Journal of Medical Entomology*, 39: 526-533.
- Hougaard, J.M., Corbel, V., N'guessan, R., Darriet, F., Chandre, F., Akogbéto, M., Baldet, T., Guillet, P., Carnevale, P. & Traoré-Lamizana, P. 2003. Efficacy of mosquito nets with

- insecticide mixtures or mosaics against insecticide resistant *Anopheles gambiae* and *Culex quinquefasciatus* (Diptera : Culicidae) in Côte d'Ivoire. *Bulletin of Entomological Research*, 93: 491-498.
- IGASS. 2006. *Mission d'appui à la lutte contre le Chikungunya à la Réunion*. Rapport Janvier 2006 012. (<http://www.chikungunya.net/Communiquerapportmission.htm>).
- InVS. 2006. *Surveillance de la dengue. Point épidémiologique hebdomadaire, situation à la semaine 2006-20 (du 15 au 21 mai 2006 (N°6))*.
- Ishaaya, I., & A.R. Horowitz. 1992. Novel phenoxy hormone analog (pyriproxyfen) suppresses embryogenesis and adult emergence of sweet potato whitefly. *Journal of Economic Entomology*, 85: 2113-2117.
- Kamimura, K., and R. Arakawa. 1991. Field evaluation of an insect growth regulator, pyriproxyfen, against *Culex pipiens pallens* and *Culex tritaeniorhynchus*. *Japan Journal Sanitary Zoology*, 42: 249-254.
- Katsuda, Y. 1999. Development of and future prospects for pyrethroid chemistry. *Pesticide Science*, 55: 775-782.
- Kiriyama, K. & Nishimura, K. 2002. Structural effects of dinotefuran and analogues in insecticidal and neural activities. *Pesticides Management Science*, 58: 669-676.
- Kodaka, K., Kinoshita, K., Wakita, T., Yamada, E., Kawahara, N. & Yasui, N. 1998. *MTI-446: a novel systemic insect control compound*. pp. 616-632. In Proceedings of the Brighton Crop Protect Conference-Pests and Diseases. BCPC, Farham, Surrey, United Kingdom.
- Kolaczinsky, J.H., Fanello, C., Hervé, J.P., Conway, D.J., Carnevale, P. & Curtis, C.F. 2000. Experimental and molecular genetic analysis of the impact of pyrethroid and non-pyrethroid insecticide impregnated bednets for mosquito control in an area of pyrethroid resistance. *Bulletin of Entomological Research*, 90: 125-132.
- Kristensen, M. & Jespersen, J.B. 2003. Larvicide resistance in *Musca domestica* (Diptera: Muscidae) populations in Denmark and establishment of laboratory strains. *Journal of Economic Entomology*, 96: 1300-1306.
- Kuno, G. 1995. Review of the factors modulating dengue transmission. *Epidemiological Revue*, 17: 321-335.

- Lapied, B., Grolleau, D.B. & Sattelle, B. 2001. Indoxacarb, an oxadiazine insecticide blocks insect neuronal sodium channels. *Br. J. Pharmacol.* 132: 587-595.
- Lee, Y.W., J. Zairi, H.H. Yap, & C.R. Adanan. 2005. Integration of *Bacillus thuringiensis* H-14 formulations and pyriproxyfen for the control of larvae of *Aedes aegypti* and *Aedes albopictus*. *Journal of American Mosquito Control Association*, 21: 84-89.
- Lemasson, J.J. & Lochouarn, L. 1993. *Evaluation en phase 2 de l'efficacité de quatre insecticides en imprégnation de moustiquaires contre les culicides à la station expérimentale de Soumouso, Burkina Faso*. Document Technique OCCGE n° 10050/93 : 15 pages.
- Lengeler, C. 1998. *Insecticide treated bednets and curtains for malaria control*. The Cochrane Library Edition, Issue 3, Oxford.
- Linley, J.R. & Jordan, S. 1992. Effects of Ultra Low Volume and thermal fog malathion scourge and Naled applications against cage adult *Culicoides furens* and *Culex quinquefasciatus* in open and vegetated terrain. *Journal of American Mosquito Control Association*, 8: 69-76.
- Lovell, J.B., Wright, D.P., Gard, I.E., Miller, T.P., Treacy, M.F., Addor, R.W. & Kamhi, V.M., 1990. *An insecticide/acaricide from a novel class of chemistry*. Brighton Crop. Conf. 2-3, 37-42.
- Lund, A.E. & Narahashi, T. 1983. Kinetics of Sodium Channel Modification as the Basis for the Variation in the Nerve Membrane Effects of Pyrethroids and DDT Analogs. *Pesticide Biochemistry & Physiology*, 20: 203-216.
- Macoris, Mde. L., Andrighetti, M.T., Takaku, L., Glasse, C.M., Garbeloto, V.C. & Brocco, J.E. 2003. Resistance of *Aedes aegypti* from the state of Sao Paulo, Brazil, to organophosphates insecticides. *Mémoires de l'Institut Oswaldo Cruz*, 98: 703-708.
- Mebrahtu, Y.B., Norem, J. & Taylor, M. 1997. Inheritance of larval resistance to permethrin in *Aedes aegypti* and association with sex ratio distortion and life history variation. *American Journal of the Tropical Medicine and Hygiene*, 56: 456-465.
- Mekuria, Y., Gwinn, T.A., Williams, D.C. Tidwell, M.A. 1991. Insecticide susceptibility of *Aedes aegypti* from Santo Domingo, Dominican Republic. *Journal of American*

*Mosquito Control Association*, 7: 69-72.

Miles, M & Dutton, R. 2000. *Spinosad, a naturally derived insect control agent with potential for use in glasshouse integrated pest management systems*. Mededelingen Faculteit Landbouwkundige en Toegepaste Biologische Wetenschappen Universiteit Gent. 65-2a: 393-400.

Miller, J.E., Lindsay S.W. & Armstrong, J.R.M. 1991. Experimental hut trials of bednets impregnated with synthetic pyrethroid or organophosphate insecticide for mosquito control in the Gambia. *Medical and Veterinary Entomology*, 5: 465-476.

Mount, A.G., Biery, L.T & Haile, D.G. 1996. A review of Ultra Low volume aerial sprays of insecticide for mosquito control. *Journal of American Mosquito Control Association*, 12: 601-618.

Najera, J.A. & Zaim M. 2002. *Lutte contre les vecteurs du paludisme. Critères et procédures de prises de décisions pour une utilisation raisonnée des insecticides*. Document WHO/CDS/WHOPES /2002.5.Rev.1. Geneva, Switzerland. 129 pages.

N'guessan, R., Darriet, F., Guillet, P., Carnevale, P., Traoré-Lamizana, M., Corbel, V., Koffi, A.A. & Chandre F. 2003. Resistance to carbosulfan in *Anopheles gambiae* from Ivory Coast, based on reduced sensitivity of acetylcholinesterase. *Medical and Veterinary Entomology*, 17: 1-7.

N'guessan, R., Corbel, V., Bonnet, J., Yates, A., Asidi, A., Akogbeto, M. & Rowland, M. 2007a. Evaluation of indoxacarb, an oxadiazine insecticide for the control of insecticide-resistant *Anopheles gambiae* s.s. (Diptera: Culicidae). *Journal of medical entomology*, 44(2): 270-276.

N'guessan, R., Boko, P., Odjo, A., Yates, A. & Rowland, M. 2007b. Chlorfenapyr: a pyrrole insecticide for the control of pyrethroid or DDT resistant *Anopheles gambiae* (Diptera: Culicidae) malaria vectors. *Acta Tropica*, 102(1): 69-78.

Narahashi, T. 2002. Nerve membrane ion channels as the target site of insecticides. *Mini Rev Med Chem*, 2: 419-32.

Okazawa, T., B. Bakote'e, H. Suzuki, H. Kawada, and N. Kere. 1991. Field evaluation of an insect growth regulator, pyriproxyfen, against *Anopheles punctulatus* on north Guadalcanal, Solomon Islands. *Journal of American Mosquito Control Association*, 7: 604-607.

- Pant C.P., Mount G., Jatanasen S, & Mathis H.L. 1971. Ultra-low volume ground aerosol of technical malathion for the control of *Aedes aegypti*. *Bulletin of the World Health Organization*, 45: 805-817.
- Pant, C.P., Mathis, H.L., Nelson, M.J. & Phanthumachinda B. 1974. A large-scale field trial of ultra-low-volume fénitrothion applied by a portable mist blower for the control of *Aedes aegypti*. *Bulletin of the World Health Organization*, 51: 409-415.
- Paul, A., Harrington, L.C. & Scott, J.C. 2006. Evaluation of novel insecticides for control of dengue vector *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae). *Journal of Medical Entomology*, 43: 55-60.
- Phonchevin, T., Upatham, E.S., Phantumachinda B., Prasittisuk, C & Sukhapanth, N. 1985. Effects of cyromazin and methoprene on the developmental stages of *Anopheles dirus*, *Aedes aegypti* and *Culex quinquefasciatus* ( Diptera : Culicidae). *Southeast Asian of the Journal Tropical Medicine Public Health*, 16: 240-247.
- Pimprale, S.S., Besco, C.L., Bryson, P.K. & Brown, T.M., 1997. Increased susceptibility of pyrethroid-resistant tobacco budworm (Lepidoptera: Noctuidae) to chlorfenapyr. *Journal of economic entomology*, 90: 49-54.
- Ping,L.T., Yatiman, R. & Gek, L.P. 2001. Susceptibility of adult field strains of *Aedes aegypti* and *Aedes albopictus* in Singapore to pirimiphos-methyl and perméthrine. *Journal of American Mosquito Control Association*, 17: 144-146.
- Pinto, M.C. & Prado, A.P. 2001. Resistance of *Musca domestica* L. populations to cyromazine (insect growth regulator) in Brasil. *Mémoire de l'Institut Oswaldo Cruz*, 96: 729-732.
- Ranque, P., Toure, Y.T., Soula, G., Du, L., Diallo, Y., Traore, O., Duflo, B. & Balique, H. 1984. Etude expérimentale sur l'utilisation de moustiquaires imprégnées de deltaméthrine dans la lutte contre le paludisme. *Parassitologia*, 26: 261-168.
- Rawlins, S.C. & Ragoonansingh, R. 1990. Comparative organophosphorous insecticide susceptibility in Caribbean population *Aedes aegypti* and *Toxorynchites moctezuma*. *Journal of American Mosquito Control Association*, 6: 315-317.

- Rawlins, S.C & Ou Hing Wan, J. 1995. Resistance in some Carrabean populations of *Aedes aegypti* to several insecticides. *Journal of American Mosquito Control Association*, 11: 59-65.
- Robert, L.L. & Olson, J.K. 1989. Susceptibility of female of *Aedes albopictus* from texas to commonly used adulticides. *Journal of American Mosquito Control Association*, 5: 251-253.
- Robert, V & Carnevale, P. Influence of deltamethrin treatment of bed nets on malaria transmission in the Kou Valley, Burkina Faso. *Bulletin of the World Health Organization*, 69:735-740.
- Rodriguez Coto, M.M., Bisset Lascano, J.A., Molina de Fernandez, D. & Soca, A. 2000. Malathion resistance in *Aedes aegypti* and *Culex quinquefasciatus* after its use in *Aedes aegypti* control programs. *Journal of American Mosquito Control Association*, 16: 324-330.
- Romi, R., Proietti, S., Di Luca, M. & Cristofaro, M. 2006. Laboratory evaluation of the bio insecticide Spinosad for mosquito control. *Journal of American Mosquito Control Association*, 22: 93-96.
- Rosine, J. 1999. *Résistance d'Aedes aegypti et de Culex quinquefasciatus aux insecticides organophosphorés, biologiques et aux pyrèthriinoïdes en Martinique et en Guadeloupe*. Mémoire DEA : Santé publique et e pays en voie de développement, Paris 6, Institut Santé et Développement : 76 p.
- Rozendaal, J.A. 1999. *La lutte antivectorielle. Méthodes à usage individuel et communautaire*. [WHO] World Health Organization. Geneva, Switzerland.
- Salgado, V.L. 1998. Studies on the mode of action of spinosad: insect symptoms and physiological correlates. *Pesticide Biochemistry & Physiology*, 60: 91-102.
- Sattelle, D.B. and Yamamoto, D. 1988. Molecular targets of pyrethroid insecticides, *Advance in Insect Physiology*, 20: 147-213.
- Seng, C.M., Seta, T., Chanta, N., Socheat, D., Guillet, P & Nathan M.B. 2006. Inhibition of adult emergence of *Aedes aegypti* in simulated domestic waterstorage containers by using a controlled-release formulation of pyriproxyfen. *Journal of American Mosquito*

---

*Control Association*, 22: 152-154.

Shen, J.L. & Plapp F.W. 1990. Cyromazine resistance in the house fly (Diptera: Muscidae): genetics and cross resistance to diflubenzuron. *Journal of Economic Entomology*, 83: 1689-1697.

Sheppard, D.C. & Joyce, J.A. 1998. Increased susceptibility of pyrethroid-resistant horn flies (Diptera :Muscidae) to chlorfenapyr. *Journal of economic entomology*, 91: 398-400.

Sihuincha, M., E. Zamora-Perea, W. Orellana-Rios, J.D. Stancil, V. Lopez-Sifuentes, C. Vidal-Ore & G.J. Devine. 2005. Potential use of pyriproxyfen for control of *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae) in Iquitos, Peru. *Journal of Medical Entomology*, 42: 620-630.

Silcox, C.A. & Roth, E.S. 1994. *Pyrethrum for pest control*. In: Casida, J.E., Quistad, G.B. (Eds), *Pyrethrum flowers*. Oxford University Press, Oxford: 285-301.

Sugiyama, S., Tsurubuchi, Y., Karasawa, A., Nagata, K., Kono, Y. & Shono, T. 2001. Insecticidal activity and cuticular penetration of indoxacarb and its *N*-decarbomethoxylated metabolite in organophosphorous insecticide-resistant and -susceptible strains of the housefly, *Musca domestica* (L.). *Journal of Pesticide Science*, 26: 117-120.

Sulaiman, S., Jeffery, J. & Sohadi, A.R. 1994. Residual efficacy of triflumuron and methoprene against the dengue vector *Aedes albopictus* (Skuse). *Bulletin of the Society of Vector ecology*, 19: 111-114.

Tang, J.D., Caprio, M.A., Sheppard, D.C. & Gaydon, D.M. 2002. Genetics and fitness costs of cyromazine resistance in the house fly (Diptera: Muscidae). *Journal of Economic Entomology*, 95: 1251-1260.

Tomizawa, M. & Yamamoto, I. 1993. Structure-activity relationships of nicotinoids and imidacloprid analogs. *Journal of Pesticide Science*, 18: 91-98.

Tomizawa M. & Casida J.E. 2005. Neonicotinoid insecticide toxicology: mechanisms of selective action. *Annu Rev Pharmacol Toxicol*, 45: 247-68.

Tomlin, C. 2000. *The pesticide manual*. 12th ed. British Crop Protection Council, London,

United Kingdom.

Weill, M., Berthomieu, A., Berticat, C., Lutfalla, G., Negre, V., Pasteur, N., Philips, A., Leonetti, J.P., Fort, P. & Raymond, M. 2004. Insecticide resistance : a silent base prediction. *Curr Biology*, 14 : 552-553.

[WHO] World Health Organization. 1985. *Sécurité d'emploi des pesticides. Neuvième rapport du comité OMS d'experts de la biologie des vecteurs et de la lutte antivectorielle*. Série de rapports techniques, N°720, Geneva, Switzerland.

[WHO] World Health Organization. 2001. *Report of the fourth WHOPES working group meeting. Review of: IR3535; KBR3023; (RS)-methoprene 20% EC; pyriproxyfen 0.5% GR and lambda-cyhalothrin 2.5% CS*. Document WHO/CDS/WHOPES/2001.2. Geneva, Switzerland.

[WHO] World Health Organization. 2004a. *Report of the seventh WHOPES working group meeting. Review of Vectobac WG, Permanet, Gokilaht-S-5EC*. Document WHO/CDS/WHOPES/2004.8. Geneva, Switzerland.

[WHO] World Health Organization. 2004b. *Pyriproxyfen in drinking-water. Background document for development of WHO Guidelines for Drinking-water Quality*. Document WHO/SDE/WSH/03.04/113. Geneva, Switzerland.

[WHO] World Health Organization. 2005. *The WHO recommended classification of pesticides hazard and guidelines to classification: 2004*. Document WHO/IPCS/WA240/2005. Geneva, Switzerland.

[WHO] World Health Organization. 2006a. *Pesticides and their application for the control of vectors and pests of public health importance*. Document WHO/CDS/WHOPES/GCDPP/2006.1. Geneva, Switzerland.

[WHO] World Health Organization. 2006b. *Report of the ninth WHOPES working group meeting. Review of Dimilin® GR and DT, Vectobac® DT, Aqua K-othrine®, Aqua Reslin Super®*. Document WHO/CDS/NTD/WHOPES/2006.2. Geneva, Switzerland.

[WHO] World Health Organization. 2007. *Report of tenth WHOPES working group meeting*. Geneva, Switzerland. (en préparation).

Williams., T., Valle, J. & Viñuela, E. 2003. Is the naturally-derived insecticide spinosad

compatible with insect natural enemies? *Biocontrol Science and Technology*, 13: 459-475.

Wing, K.D., Schnee, M.E., Sacher, M. & Connair, M. 1998. A novel oxadiazine insecticide is bio-activated in lepidopteran larvae. *Arch. Insect Biochem. Physiol*, 37: 91-103.

Wing, K.D., Sacher, M., Kagaya, Y., Tsurubuchi, Y., Mulderig, M., Connair, M. & Schnee, M.E. 2000. Bioactivation and mode of action of the oxadiazine indoxacarb in insects. *Crop Protection*, 19: 537-545.

Xue, J.L., Cai, Q.X., Zheng, D.S. & Yuan Z.M. 2005. The synergistic activity between Cry1 Aa and Cry 1c from *Bacillus thuringiensis* against *Spodoptera exigua* and *Helicoverpa armigera*. *Letters in Applied Microbiology*, 40: 460-465.

Yapabandara, A.M., and C.F. Curtis. 2004. Control of vector and incidence of malaria in an irrigated settlement scheme in Sri Lanka by using the insect growth regulator pyriproxyfen. *Journal of American Mosquito Control Association*, 20: 395-400.

Yébakima, A. 1991. *Recherches sur Aedes aegypti et Culex quinquefasciatus en Martinique : écologie larvaire, résistance aux insecticides, application à la lutte*. Thèse de l'Etat, Université de Montpellier II : 210 pages.

Zaim, M., Aitio, A., Nakashima, N., 2000. Safety of pyrethroid-treated nets. *Medical and Veterinary Entomology*, 14: 1-5.

Zhao, X., Nagata, K., Marszalec, W., YEH, J.Z. & Narahashi, T. 1999. Effects of the oxadiazine insecticide indoxacarb, DPX-MP062, on neuronal nicotinic acetylcholine receptors in mammalian neurons. *Neurotoxicology*, 20: 561-70.

# ANNEXE

Tableau comparatif des larvicides

substance active	famille chimique	Mode d'action	Statut 98/8	Classement OMS	prix	résistance	dose d'utilisation (mg/L)*	persistance d'action
<i>Bti</i>	biolarvicides	toxines entomopathogènes	notifié et dossier déposé	-	moyennement cher	aucune	1 à 5	3 à 8 semaines
spinosad	biolarvicides (naturalytes)	cible les récepteurs GABA et nicotiniques	notifié et dossier déposé	-	cher	aucune	0,1 à 0,5	10 à 12 semaines
pyriproxifène	analogue d'hormone juvénile	juvénoïde inhibiteur de la nymphose	notifié et dossier déposé	U	moyennement cher	aucune	0,02 à 0,05	6 semaines
méthoprène	analogue d'hormone juvénile	juvénoïde inhibiteur de la nymphose	non notifié	U	bon marché	faible	0,05 à 0,1	3 à 5 semaines
cyromazine	aminotriazines	ecdusoïde Inhibiteur des mues larvaires	non notifié	U	?	aucune	-	-

\* doses recommandées par l'OMS

Tableau comparatif des adulticides

substance active	famille chimique	mode d'action	statut 98/8	Classement OMS	prix	résistance
fénitrothion	organophosphorés	inhibition de l'acétylcholinestérase	notifié et intention de dossier	II	-	faible à modérée
malathion	organophosphorés	inhibition de l'acétylcholinestérase	notifié mais pas de dossier déposé	III	le moins cher	faible à modérée
deltaméthrine	pyréthrinoïdes	perturbation de la cinétique d'inactivation du canal sodium	notifié et dossier déposé	II	-	modérée à forte
chlorpyriphos-méthyl	organophosphorés	inhibition de l'acétylcholinestérase	notifié mais pas de dossier déposé	U	-	faible
pyrimiphos-méthyl	organophosphorés	inhibition de l'acétylcholinestérase	notifié mais pas de dossier déposé	III	-	faible
naled	organophosphorés	inhibition de l'acétylcholinestérase	notifié et dossier déposé	II	-	faible à modérée
pyrèthre	pyréthrines naturelles	perturbation de la cinétique d'inactivation du canal sodium	notifié et intention de dossier	II	plus cher	faible à modérée
étofenprox	pseudo-pyréthrinoïdes	perturbation de la cinétique d'inactivation du canal sodium	notifié et dossier déposé	U	très bon marché	modérée à forte

Tableau comparatif des adulticides (suite)

substance active	famille chimique	aspersion intradomiciliaire		imprégnation de moustiquaires		aspersion spatiale avec nébulisation à froid		aspersion spatiale avec nébulisation à chaud	
		dose d'utilisation (g/m <sup>2</sup> )*	persistance d'action	dose d'utilisation (g/m <sup>2</sup> )*	persistance d'action	dose d'utilisation (g/ha)*	persistance d'action	dose d'utilisation (g/ha)*	persistance d'action
fénitrothion	organophosphorés	2	3 à 6 mois	-	-	250 à 300	-	250 à 300	-
malathion	organophosphorés	2	2 à 3 mois	-	-	112 à 600	-	500 à 600	-
deltaméthrine	pyréthrinoïdes	0,02 à 0,025	3 à 6 mois	0,02 à 0,025	4 à 6 mois	0,5 à 1	-	0,5 à 1	-
chlorpyrifos-méthyl	organophosphorés	-	-	0,05 à 0,25**	-	-	-	-	-
pyrimiphos-méthyl	organophosphorés	1 à 2	-	1	3 mois	230 à 330	-	180 à 200	-
naled	organophosphorés	-	-	-	-	22,4	-	114***	-
pyrèthre	pyréthrines naturelles	-	-	-	-	5***	-	10***	-
étofenprox	pseudo-pyréthrinoïdes	0,1 à 0,3	-	0,2	-	10 à 20	-	10 à 20	-

\* doses recommandées par l'OMS

\*\* le chlorpyrifos-méthyl n'est pas recommandé par l'OMS pour les imprégnations de moustiquaires. Les doses de 0,05 et 0,25 g/m<sup>2</sup> ont été évaluées en laboratoire et sur le terrain (en cas expérimentales), dans le cadre de programmes de recherche.

\*\*\* doses testées en condition naturelle par l'IRD



### **3.3. Bti : évaluation des risques pour l'homme et l'environnement (juillet 2007)**





CEHTRA  
43 rue Laroque  
33560 Sainte Eulalie  
France

Tel (33) 5 57 77 56 10  
Fax (33) 5 57 77 56 20  
[www.cehtra.fr](http://www.cehtra.fr)

## ***Bacillus thuringiensis israelensis (Bti)***

### **I-Introduction des évaluations de risques pour l'homme et l'environnement**

**DATE**

**Juillet 2007**

En l'absence de vaccins et de médicaments pour lutter contre la maladie, les mesures visant à réduire les densités de moustiques restent des mesures très efficaces pour limiter la transmission du virus du Chikungunya. L'utilisation de produits larvicides est une des mesures employées à la Réunion. Ce document présente l'évaluation des risques pour l'homme et pour l'environnement liés à l'utilisation du *Bti* pour limiter la transmission du virus du Chikungunya. Le *Bti* est une substance larvicide utilisée dans le cadre de la lutte antivectorielle à la Réunion.

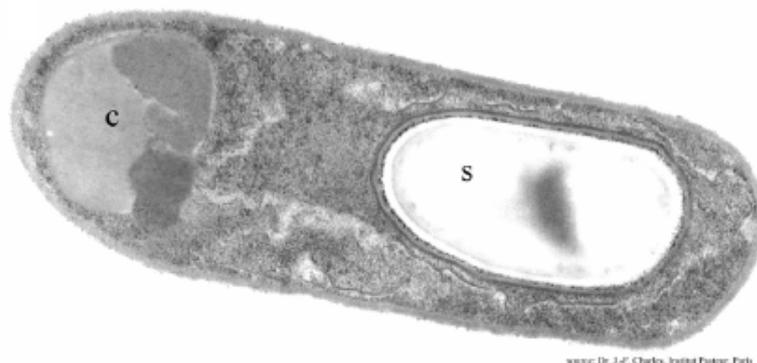
Afin de réduire significativement la propagation du virus dans la population, et en l'absence de prophylaxie médicamenteuse spécifique du Chikungunya, il est primordial d'agir contre les pullulations locales du vecteur, le moustique *Aedes albopictus*. Du fait de l'efficacité limitée des insecticides tant dans le temps que dans l'espace, la lutte doit cibler la réduction des gîtes de ce moustique vecteur. Un gîte est un lieu de ponte qui assure le bon développement des larves jusqu'à l'émergence de l'adulte. Ces gîtes sont obligatoirement constitués d'eau stagnante.

Les utilisations de larvicides pour lutter contre le vecteur du Chikungunya à la Réunion s'effectuent essentiellement en milieu naturel et se restreignent aux ravines et parcs présents en milieux urbains (DRASS Réunion, 2006a). L'utilisation de larvicides n'est recommandée qu'en cas d'absence de pluie, voire en cas de pluie très légère. Le traitement mécanique des gîtes, qui est le mode de démoustication à toujours privilégier surtout après un grand épisode de pluie, peut être effectué par tout temps. Il en est de même pour les opérations de nettoyage de fond de cours. De manière générale, les flaques d'eau résiduelles sur sol imperméable et sur gazon plat ne doivent pas être traitées par produit biologique (DRASS Réunion, 2006b).

Les évaluations réalisées prennent en compte l'utilisation du *Bti* pour traiter les principaux gîtes productifs rencontrés à l'intérieur ou aux alentours des villes de la Réunion, à savoir les ravines, les étangs, les mares, les bassins et les points d'eau stagnante présents dans les champs de canne ; les flaques d'eau résiduelles sur sol imperméable ne pouvant être traitées.

Le *Bacillus thuringiensis israelensis* (*Bti*) est une bactérie anaérobie facultative gram positive, dont l'antigène flagellaire est de sérotype H14 et qui appartient à la famille des bactéries à endospore (proche phylogénétiquement de *B. cereus* et *B. anthracis*), (EPA, 1998).

Les produits à base de *Bacillus thuringiensis israelensis* (*Bti*) sont des bio-insecticides. Ils contiennent la spore et le cristal d'endotoxines de *Bti* H14 et doivent être ingérés par les moustiques au stade larvaire pour causer la mort de l'hôte. Ces produits sont largement utilisés comme larvicide.



source: Dr J.-F. Charles, Institut Pasteur, Paris

Figure I.1. : *Bacillus thuringiensis israelensis* en phase de sporulation et de production de l'inclusion cristalline. Le cristal (c) et la spore (s) (Lacoursière J.O. et Boisvert J., 2004)

Le cristal d'endotoxine et la spore sont produits pendant la phase de sporulation, tel que présenté dans la figure I.2., décrivant le cycle de vie du *Bti*.

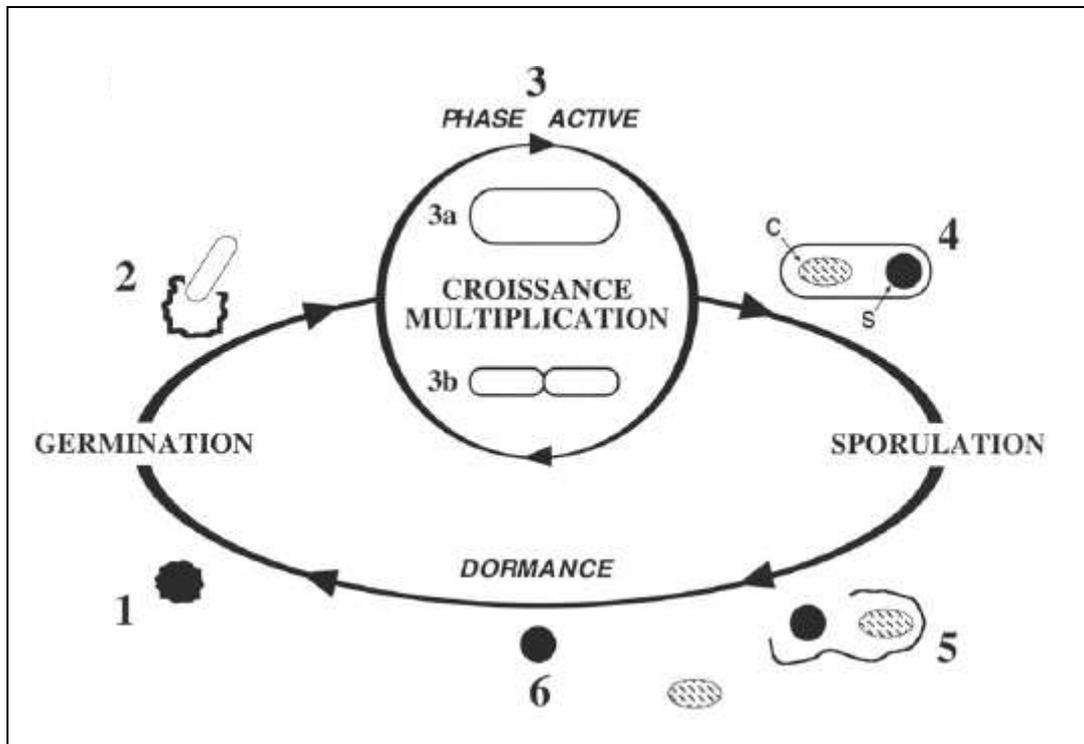


Figure I.2. : Schématisation du cycle vital du *Bacillus thuringiensis israelensis*.

1) germination : réhydratation de la spore, 2) germination : production de la cellule végétative, 3) croissance et multiplication des cellules végétatives 4) sporulation : formation de la spore (s) et de l'inclusion cristalline (c), 5) lyse : éclatement de la cellule végétative et libération de la spore et de l'inclusion cristalline, 6) période de dormance : la spore résiste aux conditions défavorables (Lacoursière J.O. et Boisvert J., 2004)

Cette évaluation simplifiée des risques pour l'homme et l'environnement liés à l'utilisation du *Bti* dans le cadre de la lutte contre le vecteur du Chikungunya à la Réunion consiste à évaluer les doses de substance active entraînant des effets toxiques pour l'homme et pour les différents compartiments environnementaux pertinents et de les comparer aux doses d'exposition de l'homme et de l'environnement pendant les phases d'application. Ces doses d'exposition seront estimées à partir des conditions d'utilisation des produits contenant du *Bti* à la Réunion pour limiter la transmission du virus du Chikungunya.

Dans le cadre de la lutte contre les moustiques, vecteurs d'arbovirose, à la Réunion, les formulations suivantes, contenant du *Bti*, sont utilisées depuis février 2006:

Nom commercial	Substance active	Type de formulation	Dose recommandée
VECTOBAC® G	<i>Bt</i> sérotype 14 200 UTI/mg (2,8 %)	Granulés	15 kg/ha
VECTOBAC® WG	<i>Bt</i> sérotype 14	Granulés	1 kg/ha

	3000 UTI/mg (42 %)	dispersibles	
--	--------------------	--------------	--

En raison des concentrations de *Bti* dans chacune des deux formulations et de la quantité de formulation recommandée par hectare, on estime que la quantité de *Bti* appliquée par hectare est la même quel que soit le type de préparation appliquée, à savoir  $3 \times 10^9$  UTI/mg (UTI : unité toxique internationale). Cette quantité de *Bti* exprimée en poids de matériel biologique par hectare est de 420 g/ha (VECTOBAC® G contient 2,8% de *Bti*).

D'après le protocole recommandé par la DRASS de la Réunion dans le cadre de la lutte contre l'épidémie de Chikungunya, un même site sera traité trois fois au moyen de produit larvicide contenant du *Bti* (DRASS Réunion, 2006c) :

- Première application,
- Deuxième application 6 jours après la première application,
- Troisième application 7 jours après la deuxième application.

Les modes d'application seront différents en fonction de la préparation sélectionnée pour traiter les gîtes larvaires, l'ensemble de ces modes sera évalué :

L'équipement d'application utilisé pour les solutions liquides préparées à base de granulés dispersibles (VECTOBAC® WG) est similaire à celui utilisé pour des applications de produits phytopharmaceutiques; il peut être :

- un pulvérisateur manuel à pression préalable,
- un pulvérisateur à jets portés monté sur un véhicule,
- un pulvérisateur à jets projetés (lance) monté sur un véhicule.

Le type d'équipement d'application qui peut être utilisé pour les applications de granulés (VECTOBAC® G) est limité : il s'agit de petits appareils portés qui dispersent les granulés de façon plus ou moins homogène. Ces équipements d'application sont peu utilisés pour appliquer les produits phytopharmaceutiques, à l'exception des engrais/désherbants sélectifs sur gazon.

Les applications manuelles seront aussi envisagées.

Cette évaluation des risques est une évaluation simplifiée des risques. Les sources de documentation sont des synthèses de documents de revue préalablement rédigés par des organismes officiels. Les rapports d'étude primaires n'ont pas été revus par les rédacteurs de ce document.

---

## REFERENCES

- DRASS Réunion, Note technique de la Direction Régionale des affaires sanitaires et sociales de la Préfecture de la Réunion sur la « stratégie et moyens de lutte pour le traitement des gîtes productifs » 2006a.
- DRASS Réunion, « Note relative aux traitements de lutte antivectorielle en fonction des conditions météorologiques. » de la Direction Régionale des affaires sanitaires et sociales de la Préfecture de la Réunion, 19 février 2006b.
- DRASS Réunion, « Lutte contre l'épidémie de Chikungunya : Recommandations à la population pour le traitement adulticide spatial, Recommandations à la population pour le traitement adulticide à pied, Note juridique permettant d'entrer dans les propriétés, Fiches techniques à destination des applicateurs sur l'insecticide adulticide utilisé, Avis de passage destiné à la population. » de la Direction Régionale des affaires sanitaires et sociales de la Préfecture de la Réunion, 11 février 2006c.
- EPA (1998) Reregistration Eligibility Decision (RED) *Bacillus thuringiensis*
- Lacoursière J.O. et Boisvert J. (2004) Le *Bacillus thuringiensis israelensis* et le contrôle des insectes piqueurs au Québec, Envirodoq : ENV/2004/0278, sur <http://www.mddep.gouv.qc.ca/pesticides/virus-nil/bti/index.htm#resume>)



CEHTRA  
43 rue Laroque  
33560 Sainte Eulalie  
France

Tel (33) 5 57 77 56 10  
Fax (33) 5 57 77 56 20  
[www.cehtra.fr](http://www.cehtra.fr)

# ***Bacillus thuringiensis israelensis (Bti)***

## **II-Propriétés physico-chimiques**

### **Evaluation du risque pour l'environnement**

**Calculs des concentrations  
prévisibles dans l'environnement  
lors de l'utilisation de VECTOBAC® G et  
VECTOBAC® WG à l'Île de la Réunion**

**DATE**

**Juillet 2007**

## TABLE DES MATIERES

<b>1. Introduction.....</b>	<b>199</b>
<b>2. substance Active .....</b>	<b>199</b>
2.1. Nom commun.....	199
2.2. BIologie.....	199
2.3. mode d'action biologique.....	200
<b>3. Propriétés physiques et chimiques des FORMULATIONs étudiées ..</b>	<b>202</b>
<b>4. Propriétés physico-chimiques de la substance active .....</b>	<b>203</b>
<b>5. Devenir et comportement dans l'environnement.....</b>	<b>203</b>
5.1. Devenir dans le sol.....	204
5.1.1. Devenir des $\delta$ -endotoxines	204
5.1.2. Devenir des spores	204
5.2. Devenir dans l'eau.....	204
5.3. Devenir sur les plantes .....	205
5.4. Devenir dans les insectes.....	205
5.5. Application de produits formules à base de bti et persistance dans l'environnement.....	206
<b>6. Evaluation du risque pour l'environnement .....</b>	<b>207</b>
6.1. Voie et vitesse de dégradation dans l'air .....	208
6.2. Voie et vitesse de dégradation dans l'eau .....	208
6.2.1. Devenir dans les eaux de surface	208
6.2.2. Devenir dans les eaux souterraines	210
6.3. Voie et vitesse de dégradation dans les sédiments.....	210
6.3.1. Méthode de calcul	210
6.3.2. Paramètres considérés	211
6.3.3. Résultats	211
6.4. Voie et vitesse de dégradation dans le sol .....	212
6.4.1. Méthode de calcul de CPE <sub>local</sub> sol	212
6.4.2. Paramètres considérés	212
6.4.3. Résultats	213
<b>7. Transfert des genes de Bti .....</b>	<b>214</b>

---

## 1 INTRODUCTION

---

Ce document présente les propriétés physico-chimiques des préparations VECTOBAC® G et VECTOBAC® WG à base de *Bti* utilisées à l'Île de la Réunion dans le cadre de la lutte antivectorielle (LAV) contre le Chikungunya (traitements larvicides, voir introduction générale) ainsi qu'une évaluation des risques pour l'environnement : risque d'accumulation des substances et produits testés, et risque pour le consommateur par l'intermédiaire d'eau potable potentiellement contaminée.

La substance active, le *Bti*, étant une bactérie, l'évaluation des risques pour l'environnement est délicate en raison de l'absence de données quantitatives habituellement utilisées pour les substances actives chimiques. Ce document présente la biologie et le mode d'action très spécifique du *Bti*. Les données utilisées pour l'évaluation simplifiée du risque pour l'environnement sont présentées ainsi que les calculs et les hypothèses retenues en l'absence de données pertinentes.

Les données utilisées proviennent majoritairement de la revue du *Bti* par l'OMS et le Ministère du Québec (WHO, 1999 et Lacoursière J.O. et Boisvert J., 2004). Cette revue est disponible publiquement, mais, cependant, les études ayant servi à cette évaluation n'ont pas été consultées. Elles pourront l'être en cas d'ambiguïté dans le cadre d'une évaluation affinée des risques.

---

## 2 SUBSTANCE ACTIVE

---

### 2.1 NOM COMMUN

---

*Bacillus thuringiensis israelensis (Bti)*

---

### 2.2 BIOLOGIE

---

*Bacillus* est un genre de bactéries caractérisé par sa forme en bâtonnet, la production d'une endospore au maximum par cellule et la non inhibition de sa phase de sporulation par l'exposition à l'air (EPA, 1998).

L'espèce *thuringiensis*, dans le genre *Bacillus*, se distingue par la production d'une ou plusieurs inclusions cristallines parasporales en phase de sporulation. Les sous-espèces se différencient par le nombre d'inclusions cristallines parasporales ( $\delta$ -endotoxines) produites et par la production ou non d'autres toxines. Historiquement, l'analyse de l'antigène flagellaire permet de classer les sous-espèces de l'espèce *thuringiensis* (EPA, 1998).

Le *Bacillus thuringiensis israelensis (Bti)* est une bactérie anaérobie facultative gram positive, dont l'antigène flagellaire est de sérotype H14 et qui appartient à la famille des bactéries à endospore (proche phylogénétiquement de *B. cereus* et *B. anthracis*) (EPA, 1998).

Tableau II.1 : Principaux caractères bactériologiques permettant de différencier les espèces du groupe *Bacillus Cereus* (Dictionnaire de bactériologie vétérinaire de J.P. Euzéby, 2003).

	<i>B. anthracis</i>	<i>B. cereus</i>	<i>B. thuringiensis</i>	<i>B. weihenstephanensis</i>
Aspect des colonies sur gélose au sang non incubée en présence de CO <sub>2</sub>	Colonies en tête de méduse	Colonies circulaires ou de forme irrégulière, d'aspect crémeux, mat ou granuleux	Colonies blanches ou grisâtres	Colonies circulaires ou de forme irrégulière, d'aspect crémeux, mat ou granuleux
Hémolyse sur gélose au sang de mouton en 24 heures	-	+	+	+
Croissance à une température inférieure à 7 °C en milieu agité	-	-	-	+
Mobilité	-	+/-	+/-	+/-
Présence d'un cristal parasporal	-	-	+	-
Sensibilité à la pénicilline	+	-	-	-
Lyse par le phage gamma	+	-	-	-
ADH	-	nr	+	nr
Acidification du glycérol	-	+	+	+

nr : non reporté

ADH : arginine dihydrolase

+ : 85 p. cent des souches ou plus donnent une réponse positive.

+/- : 50 à 84 p. cent des souches ou plus donnent une réponse positive.

- : moins de 15 p. cent des souches donnent une réponse positive.

## 2.3 MODE D'ACTION BIOLOGIQUE

Lors de la phase de sporulation chaque bactérie de type *Bti* produit des inclusions cristallines parasporales constituées de plusieurs protéines, les protoxines ( $\delta$ -endotoxines) présentant des propriétés insecticides. Chez *Bti*, ces  $\delta$ -endotoxines regroupent quatre protéines Cry (4Aa, 4Ba, 10Aa et 11Aa) et deux protéines Cyt (1Aa et 2Ba) (Guechicoff *et al.*, 1997). L'absence de résistance à *Bti* est due à la présence de la protéine Cyt1A qui agit en synergie avec les protéines Cry (Wirth *et al.*, 2005 ; Perez *et al.*, 2005). Le mécanisme moléculaire responsable de l'effet synergique de Cyt1A et des protéines Cry est encore mal connu, mais le mode d'action de ces dernières a été décrit (figure II.1).

Une fois ingérées par les larves d'insecte appartenant aux espèces cibles, les  $\delta$ -endotoxines du cristal sont libérées, en raison de l'environnement alcalin de l'intestin moyen de la larve. Elles sont alors activées à la suite de clivages protéolytiques. Les toxines ainsi activées vont ensuite se fixer sur des récepteurs présents à la surface des microvillosités des cellules épithéliales de la paroi intestinale (fixation par la région C-terminale des toxines).

Après fixation sur le récepteur, la partie N-terminale des toxines va s'insérer dans la membrane cellulaire. L'oligomérisation des molécules de toxine va permettre la formation de

pores qui vont interférer avec les systèmes de transport d'ions à travers la membrane cellulaire, et conduire à une modification du pH intestinal (Griffitts et Arorian, 2005).

Par la suite, provoquées par le déséquilibre biochimique induit par l'activité des toxines, les cellules affectées se gonflent et éclatent, causant la perforation de la paroi du tube digestif. Ceci provoque le passage du suc digestif dans la cavité corporelle de l'insecte et le mouvement inverse de l'hémolymphe (l'équivalent du sang chez les insectes). Bien que certains effets neurotoxiques aient été aussi observés, il semble qu'une perte complète d'intégrité causée par l'éclatement de son tube digestif serait la cause de la mort chez un insecte empoisonné aux cristaux de *Bacillus thuringiensis* var. *israelensis* (Lacoursière J.O. et Boisvert J., 2004).

Après ingestion de *Bti*, les larves cessent de s'alimenter dans l'heure qui suit, montrent une activité réduite après 2 heures et présentent une grande lenteur après 4 heures et une paralysie 6 heures après. Les autres souches de *Bt* ne conduisent pas à un effet aussi rapide.

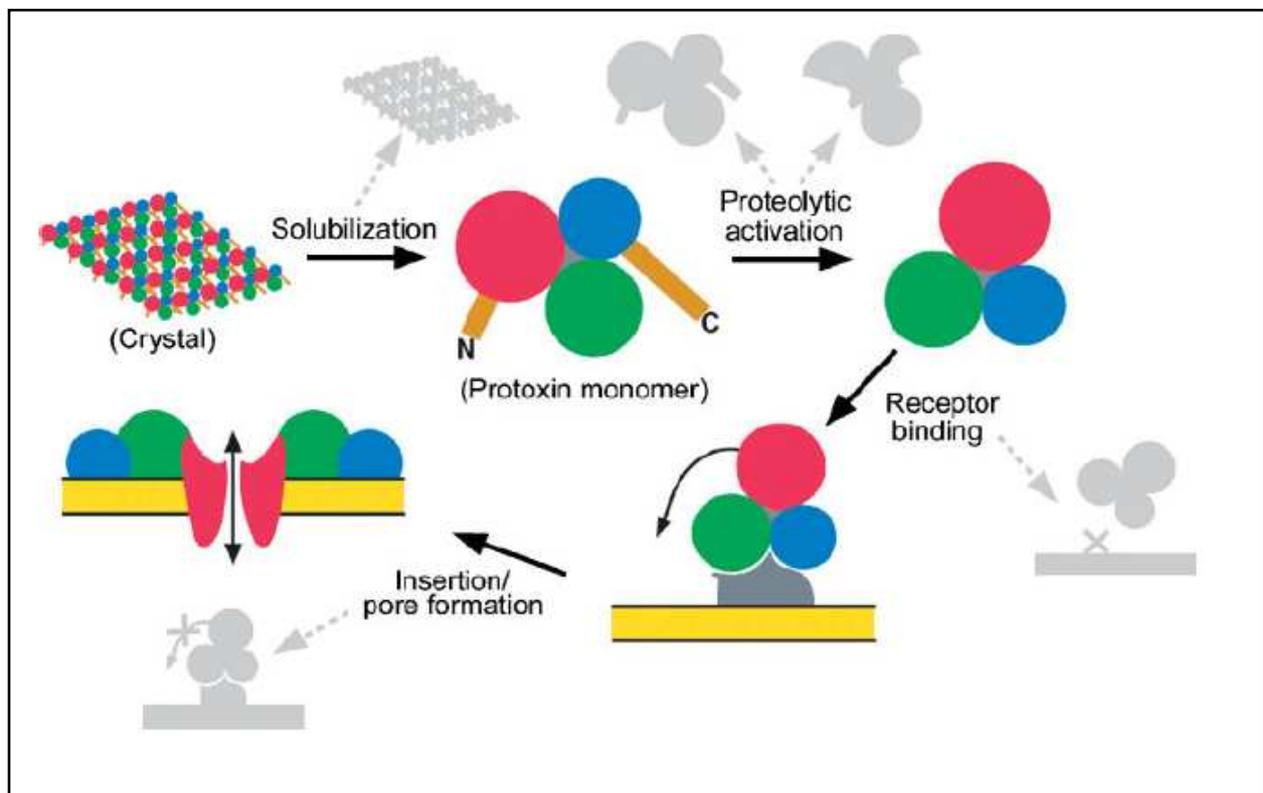


Figure II.1 : Mode d'action des protéines Cry et mécanismes hypothétiques de résistance (Griffitts et Arorian, 2005)

Plusieurs étapes sont donc nécessaires à l'obtention d'un effet toxique occasionné par des cristaux de *Bacillus thuringiensis* var. *israelensis*. Sous des conditions naturelles, c'est-à-dire dans son habitat, un insecte visé doit (Lacoursière J.O. et Boisvert J., 2004) :

1. ingérer le cristal de *Bti*, donc le capturer et l'avalier ;
2. posséder un tube digestif à pH hautement alcalin pour solubiliser les protoxines;
3. posséder les enzymes protéolytiques capables de transformer les protoxines en toxines et finalement ;
4. posséder les récepteurs membranaires spécifiques, c'est-à-dire ayant une affinité pour les toxines libérées par les enzymes.

### 3 PROPRIETES PHYSIQUES ET CHIMIQUES DES FORMULATIONS ETUDIEES

Pour la production commerciale, la culture de *Bti* s'effectue en cuve de fermentation utilisant des techniques sophistiquées afin de contrôler de nombreuses variables telles que la température, l'humidité, l'oxygène, le pH et les nutriments. Le procédé est similaire à celui utilisé pour la production de bière, excepté que les bactéries de type *Bti* sont cultivées sur des substrats riches en protéines et que la spore et les  $\delta$ -endotoxines sont les produits terminaux. A la fin du procédé de fermentation, les bactéries de type *Bti* épuisent les nutriments en phase de sporulation avant la lyse cellulaire. Simultanément à la sporulation, les  $\delta$ -endotoxines sont produites. Les spores et les  $\delta$ -endotoxines sont ensuite concentrées via centrifugation et microfiltration. Puis, en vue de la préparation de formulations solides telles que le VECTOBAC® G et le VECTOBAC® WG, le matériel obtenu est séché (Florida Coordinating Council on Mosquito Control, 1998).

VECTOBAC® G : granulés de *Bti*, les rafles de maïs (sous-produits du maïs) sont le co-formulant principal ; le granulé est ainsi suffisamment dense pour pénétrer la végétation lourde (Florida Coordinating Council on Mosquito Control, 1998) où sera appliquée cette formulation à la Réunion.

Le titre de cette formulation est de 200 UTI/mg (UTI : unité toxique internationale). Il est utilisé à la dose moyenne de 15 kg/ha dans le cadre de la lutte antivectorielle (Ministère de la santé et de la Protection Sociale, 2004 ; DAF Réunion, 2006).

VECTOBAC® WG : granulés de *Bti* dispersibles dans l'eau, les co-formulants ne sont pas connus.

Le titre de cette formulation est de 3000 UTI/mg. Il est utilisé à la dose moyenne de 1 kg/ha dans le cadre de la lutte antivectorielle (Ministère de la santé et de la Protection Sociale, 2004 ; DAF Réunion, 2006).

Les informations disponibles concernant les propriétés physico-chimiques des deux formulations sont limitées. Les informations suivantes sont issues des fiches de données de sécurité du producteur des formulations (Valent Biosciences 2003a, 2003b) :

L'odeur du VECTOBAC® G est légère ; le VECTOBAC® WG dégage une légère odeur organique et de malte. Le VECTOBAC® G est chimiquement stable ; la mise en suspension du VECTOBAC® WG est rapide dans l'eau. Les densités apparentes du VECTOBAC® G et VECTOBAC® WG sont similaires : 0,43 g/mL et 0,4 g/mL, respectivement.

En raison des concentrations de *Bti* dans chacune des deux formulations et de la quantité de formulation recommandée par hectare, on estime que la quantité de *Bti* appliquée par hectare est la même quel que soit le type de préparation appliquée, à savoir  $3 \times 10^9$  UTI/mg. Cette quantité de *Bti* exprimée en poids de matériel biologique par hectare est de 420 g/ha (VECTOBAC® G contient 2,8% de *Bti*).

Il n'existe aucun test chimique ou immunologique permettant d'évaluer facilement la quantité de cristaux présents dans une formulation donnée, d'où l'incapacité d'exprimer, sous forme de poids (ex. mg/L), la quantité de toxines réelles. Le potentiel larvicide d'une formulation est donc évalué directement par un test de toxicité (essai biologique ou bio-essai) sur des larves d'*Aedes aegypti*, un moustique possédant une répartition quasi mondiale.

Connaissant l'activité toxique de la préparation standard, le potentiel d'une formulation est exprimé en UTI par comparaison des résultats de toxicité de la formulation testée par rapport à la préparation standard (Lacoursière J.O. et Boisvert J., 2004).

Le nombre de spores lors de la production en masse du *Bti* est variable et n'a aucun lien direct clairement établi avec le nombre de cristaux engendrés (responsables de l'effet insecticide). Néanmoins, afin de pouvoir réaliser une estimation préliminaire quantitative liée à l'utilisation du *Bti* et l'impact des spores, une estimation de la quantité de spores appliquée par hectare a pu être réalisée en première approche à partir des données disponibles :

VECTOBAC® 12 AS est une formulation liquide contenant du *Bti*. D'après Valent SA, producteur commun de VECTOBAC® 12 AS et de VECTOBAC® WG et G, la formulation VECTOBAC® 12 AS contient  $5 \times 10^9$  ufc/mL (ufc : unité formant colonies) (Danish EPA, 2005). Un litre de VECTOBAC® 12 AS est équivalent au niveau d'activité de 400 g de VECTOBAC® WG (DRASS Réunion 2006), donc on peut estimer que  $1,25 \times 10^{13}$  ufc/ha sont appliqués en suivant les recommandations de doses à appliquer pour le VECTOBAC® WG :

$5 \times 10^9 \times 1000 \times (1000/400) = 1,25 \times 10^{13}$  ufc/ha.

Cette valeur ne peut être considérée que comme une première estimation ; le nombre de spores lors de la production en masse du *Bti* étant variable et n'ayant aucun lien direct clairement établi avec le nombre de cristaux engendrés.

#### 4 PROPRIETES PHYSICO-CHIMIQUES DE LA SUBSTANCE ACTIVE

En ce qui concerne la substance active, s'agissant d'une bactérie, il n'est pas pertinent de parler de propriétés physico-chimiques. Ainsi seules ses propriétés biologiques ont été présentées (chapitre 2.2 de ce document) et comparées avec d'autres espèces de genre *Bacillus*.

#### 5 DEVENIR ET COMPORTEMENT DANS L'ENVIRONNEMENT

En raison de sa nature et de sa présence naturelle dans l'environnement, le *Bti* a été peu étudié pour estimer son devenir et comportement dans l'environnement. Cette section reprend les informations collectées à ce sujet, majoritairement issues de la revue effectuée par l'OMS (Organisation Mondiale de la Santé) (WHO, 1999).

Les produits formulés à base de *Bacillus thuringiensis israelensis* (*Bti*) contiennent des complexes  $\delta$ -endotoxines et spores dans lesquels les spores sont viables ou inactivées. Dans le cas du VECTOBAC® les spores peuvent être viables.

Les bactéries du genre *Bacillus*, ont en effet la capacité de former des endospores qui sont résistants à une inactivation par la chaleur ou la dessiccation et qui persistent dans l'environnement dans des conditions défavorables (Stahly *et al.*, 1991 dans WHO, 1999).

Le document traite donc ici, dans la limite des informations disponibles, du devenir dans l'environnement supposé des spores viables et des endotoxines présentes dans les produits formulés appliqués, après avoir passé en revue les différents compartiments de l'environnement.

---

## 5.4 DEVENIR DANS LE SOL

---

### 5.4.1 Devenir des $\delta$ -endotoxines

D'après l'EPA (1998), dans le sol les toxines de *B. thuringiensis* peuvent persister pendant plusieurs mois. Dans le cas présent, il faut souligner que les toxines doivent être considérées au sens large du terme. Ainsi, ce terme représente les inclusions cristallines parasporales en phase de sporulation des bactéries d'espèce *B. thuringiensis* et ne doivent pas être confondues avec les toxines de *Bti* activées dans des conditions enzymatiques et de pH bien spécifiques aux insectes.

### 5.4.2 Devenir des spores

D'après l'OMS (WHO, 1999) :

- D'après Petras & Cassida (1985) (dans WHO, 1999) le nombre de spores de *Bt* (sans autre précision) comptées dans le sol après application a diminué d'un facteur 10 dans les 2 premières semaines puis est resté stable pendant les 8 mois qui ont suivi. Cette persistance résulterait de l'incapacité des spores à germer dans le sol. Par contre des cellules végétatives introduites dans le sol n'y ont persisté qu'un temps très court.
- Dans les travaux de West *et al.* (1984a, b) (dans WHO, 1999) on retrouve également une disparition exponentielle des cellules végétatives dans le sol tandis que les cristaux parasporaux disparaissent plus lentement (taux non exponentiel) et que le nombre de spores reste stable après 91 jours d'incubation à 25 °C, avec absence de germination détectable.
- En effet plusieurs études ont montré que le *Bt* (sans autre précision) ne se multiplie pas dans la plupart des sols naturels (West *et al.*, 1984a,b ; Akiba, 1986) (dans WHO, 1999). Cette observation est attribuée au fait que les spores de *Bt* (sans autre précision) sont incapables de germer dans ces conditions.
- Une étude environnementale de Bernier *et al.* (1990) (dans WHO, 1999) a démontré qu'il n'y avait pas d'accumulation significative de spores dans les couches organiques ou minérales du sol sur une période de 11 mois après application aérienne de *Bt* (sans autre précision) à des concentrations considérées très supérieures aux concentrations de traitement de l'époque.
- De plus, plusieurs études indiquent que le *Bt* (sans autre précision) est relativement immobile dans le sol, aucun mouvement vertical au-delà de 6 cm de profondeur, ni aucun mouvement latéral au-delà de 10 m n'ont été observés (Martin & Reichelderfer, 1989) (dans WHO, 1999). Cette immobilité s'expliquerait par l'affinité des spores pour les particules du sol. L'adsorption ne serait pas affectée par des températures entre 7 et 50 °C (Venkateswerlu & Stotsky, 1992) (dans WHO, 1999).

---

## 5.5 DEVENIR DANS L'EAU

---

Selon le document WHOPES (WHO, 2005), les produits à base de *Bti* sont sans danger dans les environnements aquatiques, eaux de boissons et réservoirs inclus.

A la Réunion, le protocole dans le cadre de la LAV implique 3 applications à 6 et 7 jours d'intervalle en raison de la courte durée d'efficacité des produits contenant du *Bti*. Généralement, l'effet toxique de la majorité des formulations commerciales sur la faune cible s'estompe rapidement, suivant un niveau de toxicité initial élevé jusqu'à sa disparition en quelques jours dans les milieux lotiques (Mulligan *et al.* 1980; Davidson *et al.* 1981; McLaughlin et Billodeaux 1983; Mulla *et al.* 1985; Su et Mulla 1999 dans Lacoursière J.O. et Boisvert J., 2004). Cette diminution rapide est due à une disparition de la disponibilité des cristaux.

D'après l'OMS (WHO, 1999):

- Les spores de *Bti* restent viables moins longtemps dans des eaux courantes que dans des eaux stagnantes (Yousten *et al.*, 1992) (dans WHO, 1999).
- Le contact du *Bti* avec les particules en suspension dans l'eau n'influence pas la viabilité des spores mais réduit son activité larvicide (Ohana *et al.*, 1987) (dans WHO, 1999). De plus, cette adsorption sur les particules en suspension entraîne une sédimentation rapide. Ces résultats sont confirmés dans l'évaluation du *Bti* par le PSD (1992). En effet, une étude a montré que l'activité larvicide était réduite de 85% dans de l'eau d'étang comparée à de l'eau distillée.

---

## 5.6 DEVENIR SUR LES PLANTES

---

D'après l'EPA (1998), les toxines (*i.e.* inclusions cristallines parasporales) de *B thuringiensis* se dégradent rapidement dans la phyllosphère sous l'action des rayonnements U.V. La demie vie de produits à base de *B. thuringiensis* sur le feuillage est de l'ordre de 1 à 4 jours. L'exposition des organismes non cibles hors sol est considérée minimale.

D'après l'OMS (WHO, 1999) :

- Les radiations solaires sont le facteur environnemental qui affecte le plus la stabilité des endotoxines de *Bt* (sans autre précision) (Pinnock *et al.*, 1974 ; Pinnock *et al.*, 1977 ; Griego & Spence, 1978 ; Pusztai *et al.*, 1991) (dans WHO, 1999).
- Griego & Spence (1978) (dans WHO, 1999) ont démontré que les spores de *Bt* (sans autre précision) étaient très rapidement inactivées par les UV.
- D'autres études ont montré que la survie des spores de *Bt* (sans autre précision) était affectée par la nature des plantes sur lesquelles elles se déposaient. A titre d'exemple sur des feuilles de *Quercus agrifolia* la DT<sub>50</sub> était de 3,9 jours tandis que sur des feuilles de *Cercis occidentalis* elle n'était plus que de 0,63 jour (Pinnock *et al.*, 1974). (dans WHO, 1999).
- D'après Dent (1993) (dans WHO, 1999), les formulations à base de *Bt* (sans autre précision) appliquées sur le feuillage ont fréquemment des DT<sub>50</sub> jusqu'à 10 jours.

En conclusion : La dégradation des spores de *Bt* sur les plantes varie selon la nature des feuilles de la plante mais reste rapide quel que soit le support.

---

## 5.7 DEVENIR DANS LES INSECTES

---

Plusieurs études ont montré que le *Bt* (sans autre précision) est susceptible de croissance et de sporulation dans les cadavres d'insectes (Khawaled *et al.*, 1990 ; Meadows, 1993) (dans WHO, 1999).

Bien que la germination des spores et la croissance des cellules végétatives soient possibles dans les cadavres de moustiques traités au *Bti* (Aly 1985 dans Lacoursière J.O. et Boisvert J., 2004), cette bactérie est incapable d'établir et de maintenir un niveau d'infection capable de contrôler une population naturelle de moustiques ou de mouches noires (Ramoska *et al.* 1981, Boisvert et Boisvert 1999 dans Lacoursière J.O. et Boisvert J., 2004).

---

## 5.8 APPLICATION DE PRODUITS FORMULES A BASE DE BTI ET PERSISTANCE DANS L'ENVIRONNEMENT

---

Le *Bti* est utilisé en formulations de types granulés (GR) et granulés dispersibles dans l'eau (WG). En lutte antivectorielle, la dose recommandée est de 15 kg /ha pour le VECTOBAC® G et de 1 kg/ha pour le VECTOBAC® WG. Ces deux doses correspondent à une application de 420 g/ha de *Bti*.

Le mode d'application considéré est une pulvérisation directe sur plans d'eau et autres milieux aquatiques territoriaux pour le VECTOBAC® WG et une distribution manuelle ou une distribution par machine plus ou moins homogène pour le VECTOBAC® G.

Le VECTOBAC® G est préférentiellement appliqué sur les eaux des zones de végétation dense. Les granulés formulés avec des rafles de maïs sont suffisamment denses pour pénétrer la végétation mais flottent une fois sur l'eau. Le VECTOBAC® WG est appliqué préférentiellement dans les eaux bordées de peu de végétation.

A la Réunion, le protocole dans le cadre de la LAV implique 3 applications à 6 et 7 jours d'intervalle liées à la durée d'efficacité des produits contenant du *Bti*. Cette durée d'efficacité est dépendante de la persistance de l'effet toxique du *Bti*. Le *Bti* étant introduit dans l'environnement sous forme de spores et de cristaux, l'évaluation de la persistance du *Bti* doit aussi considérer la persistance physique de ces deux composants.

La persistance de l'effet toxique du *Bti* dépend principalement de la disponibilité des cristaux. Généralement, l'effet toxique de la majorité des formulations commerciales sur la faune cible s'estompe rapidement, suivant un niveau de toxicité initial élevé jusqu'à sa disparition en quelques jours dans les milieux lotiques (Mulligan *et al.* 1980; Davidson *et al.* 1981; McLaughlin et Billodeaux 1983; Mulla *et al.* 1985; Su et Mulla 1999 dans Lacoursière J.O. et Boisvert J., 2004) et, en quelques minutes, en eau courante (la période d'activité toxique se limite au passage du « nuage » d'insecticide dans la rivière ou le ruisseau). Ainsi, on remarque que l'éclosion et le développement de nouvelles larves de moustiques sont observables trois ou quatre jours après un traitement de leur habitat. Cette faible persistance de l'activité toxique est attribuable à la floculation, l'adsorption sur des substrats naturels (eg. les algues recouvrant les plantes submergées) et à la sédimentation des cristaux de *Bti*, et ce, quoique leur durée de vie, *i.e.* leur présence physique, s'étende sur plusieurs semaines, voire possiblement des années en laboratoire et sur le terrain (Dupont et Boisvert 1985, Boisvert et Boisvert 1999 dans Lacoursière J.O. et Boisvert J., 2004). Les cristaux ainsi « immobilisés » conservent leur potentiel toxique pour les espèces sensibles et demeurent amorphes pour tout organisme ne possédant pas les conditions physiologiques nécessaires à leur activation. Cette immobilisation n'est pas nécessairement permanente puisqu'une agitation et une resuspension des sédiments peuvent rétablir une partie de l'activité toxique (Sheeran et Fisher 1992 dans Lacoursière J.O. et Boisvert J., 2004). De même, on a pu récupérer, par filtration des sédiments, près de 90 % de l'activité toxique des cristaux de *Bti*, et ce, jusqu'à 22 jours suivant leur application (Ohana *et al.* 1987 dans Lacoursière J.O. et Boisvert J., 2004).

Les cristaux et les spores de *Bti* sont présents dans l'écosystème aquatique pour une période qui excède celle de l'activité toxique. La durée de vie d'un cristal de *Bti* n'est pas précisément connue, mais en tant que matériels organiques, les cristaux de *Bti* sont éventuellement dégradés et leurs constituants (acides aminés) sont recyclés dans l'écosystème. La vitesse à laquelle ils seront recyclés sera principalement dépendante de l'activité enzymatique du milieu et notamment à la présence d'organismes microscopiques (Lacoursière J.O. et Boisvert J., 2004).

Considérant l'usage larvicide du *Bti*, le produit est appliqué par pulvérisation directe sur plan d'eau, ce qui peut entraîner la contamination des sols par dérive de la substance active. Même si le *Bti* est un organisme naturel du sol qui peut persister sous forme de cristaux ou de spores, une accumulation de ces composants par application répétée deux à trois fois dans l'année peut être exclue.

Ainsi, une étude au cours de laquelle du VECTOBAC® G à 13 kg/ha a été appliqué 3 fois dans une réserve naturelle au sud de la Suisse, avec un intervalle d'environ une semaine entre les deux premières applications et d'environ une année entre les deuxième et troisième applications, a montré l'absence d'accumulation du *Bti* dans le sol. La quantité de *Bti* a été mesurée en tant que taux de spores de *Bti* par rapport à la quantité totale de spores de morphologie de type *Bacillus thuringiensis/cereus* présentes dans le sol (De Respinis *et al.* 2006).

Cette quantité était d'environ 25%, 100 jours après les deux premières applications, puis 3%, après 320 jours. Elle était de 18%, 8 jours après la dernière application (appliquée 1 an après la première application). Il a été démontré que les spores de *Bti* diminuent graduellement au cours du temps, et même si elles sont capables de persister, elles ne germent pas et ne prolifèrent pas dans le sol.

Malgré une utilisation de plus en plus fréquente depuis plus de 20 ans, il n'y a pas d'études exhaustives concernant l'accumulation et la durée de vie des cristaux et des spores de *Bti*, à la suite de traitements répétés durant de nombreuses saisons. Cependant, dans les zones où la réinvasion est grande, comme c'est le cas à la Réunion, les doses et l'intensité des traitements demeurent semblables au cours des ans, ce qui semble indiquer qu'il n'y a pas pour le moment de phénomène imputable à la persistance des cristaux et de l'activité toxique de même qu'à la germination et la multiplication de la bactérie.

Ces constatations sont une indication de la faible persistance dans l'environnement du *Bti* provenant des formulations insecticides (Ramoska *et al.* 1981, Boisvert et Boisvert 1999 dans Lacoursière J.O. et Boisvert J., 2004).

## 6 EVALUATION DU RISQUE POUR L'ENVIRONNEMENT

Dans ce contexte, le risque environnemental comprend la possibilité d'accumulation dans les systèmes environnementaux (sols, systèmes eaux sédiments) ainsi que de la percolation vers des nappes phréatiques à partir desquelles de l'eau potable pourrait être extraite.

En fonction des limites dans l'interprétation des données disponibles, notamment au niveau quantitatif, les CPE (Concentrations prédictibles dans l'environnement) dans les différents compartiments environnementaux ont été estimées en utilisant des hypothèses très conservatrices. Ainsi, les valeurs pire cas d'une dégradation très lente (valeur maximum de DT<sub>50</sub>) ont été automatiquement employées, bien que l'expérience d'utilisation laisse

supposer une faible persistance dans l'environnement du *Bti* provenant des formulations insecticides.

Dans le cadre de cette évaluation simplifiée des risques, les CPE sont exprimées en g de *Bti*/L, et non en concentrations de spores ou de cristaux. Ces valeurs pourront être comparées avec celles de CPSE (Concentration Prévisible Sans Effet), présentées dans la partie « III-Evaluation du risque écotoxicologique » et dérivées à partir d'études dans lesquelles le matériel testé n'est pas précisément décrit.

Les calculs suivants sont faits avec cette dose maximale de 420 g de substance active/ha, avec 3 applications à 6 et 7 jours d'intervalle.

---

## 6.1 VOIE ET VITESSE DE DEGRADATION DANS L'AIR

---

L'application du *Bti* se fait avec des formulations de type GR (granulés) et WG (granulés dispersibles dans l'eau) dont la volatilité n'est pas connue. On peut supposer que les granulés de VECTOBAC® G ne sont pas volatiles et ne sont donc pas retrouvés dans l'air. Par contre il est difficile de conclure sur la présence ou non de spores dans l'air suite à l'application de VECTOBAC® WG par pulvérisation.

Les autorités canadiennes rapportent néanmoins que les concentrations de *Bt* (sans précision) dans l'air diminuent rapidement après application. Ils rapportent que 2 heures après pulvérisation, moins de 2% de la concentration totale est détectée. Dans les municipalités situées aux alentours des zones de pulvérisation, l'analyse de la majorité des échantillons d'air a montré une concentration bactérienne inférieure à 1 bactérie/m<sup>3</sup>. La nature des produits utilisés et les conditions expérimentales de traitement et d'analyse utilisés pour dériver ces conclusions ne sont pas indiquées (Health Canada, 2004).

---

## 6.2 VOIE ET VITESSE DE DEGRADATION DANS L'EAU

---

### 6.2.1 Devenir dans les eaux de surface

Les principales informations disponibles sur le devenir et le comportement du *Bti* dans l'eau ont été présentées au point précédent (devenir et comportement dans l'environnement). Ces informations ne permettent pas d'en déduire des données d'entrée valides pour les modèles ; par conséquent dans une démarche conservatrice le produit est considéré stable et les valeurs par défaut recommandées par FOCUS sont considérées.

L'application du *Bti* sur des eaux statiques peut être considérée comme un pire cas. A défaut de données sur la dégradation ou la mortalité des spores et endotoxines dans l'eau et dans le sédiment, elles seront considérées stables (DT<sub>50</sub> de 1000 jours par défaut).

Habituellement, l'évaluation des risques pour l'environnement des biocides est conduite selon les recommandations du Document Guide Technique (TGD, 2003). Toutefois, aucun scénario d'émission standard (ESD, Emission Scenario Document) n'est disponible pour les usages de larvicides en plein air et plus particulièrement pour le cas des applications directes sur les eaux de surface. Par conséquent, le modèle EUSES n'a pas été proposé et un scénario simplifié d'émission de la substance dans l'environnement a été considéré. Nous avons utilisé l'approche pire cas réaliste dans la mesure des informations disponibles.

Les calculs ont été conduits en considérant la dose maximale de produit contenant du *Bti* appliquée, soit 420 g/ha de *Bti*, ainsi que le nombre maximal d'applications, soit 3

applications espacées de 6 jours puis 7 jours. En application directe sur plan d'eau, 100 % de la substance active est supposée atteindre les eaux de surface.

Un plan d'eau stagnante d'une superficie égale à 1 hectare et de 30 cm de profondeur a été considéré pour les calculs de  $CPE_{\text{eau de surface}}$ . Ce scénario est pris par défaut, il est représentatif des cours d'eau et eaux stagnantes, et représente un cas défavorable pour les zones traitées (DIREN Réunion, 2006). Selon les recommandations françaises (SSM, 2004), la  $CPE_{\text{eau de surface}}$  après application directe est égale à :

Pour une application :

$$CPE_{1 \text{ application}} (\mu\text{g/L}) = \text{dose appliquée (g s.a./ha)} * 1/3$$

Pour n applications :

$$CPE_{\text{après la dernière application}} (\mu\text{g/L}) = CPE_{1 \text{ application}} + CPE_{\text{résiduelle des précédentes applications}}$$

A partir de la  $CPE_{1 \text{ application}}$ , une concentration moyenne pondérée dans le temps ( $CPE_{\text{eau de surface, mpt}}$ ) est également calculée sur une période couvrant la durée totale de toutes les applications; plus 42 jours après la dernière application. De cette manière, la  $CPE_{\text{eau de surface, mpt}}$  tient compte de :

- La dégradation de la substance
- Le nombre d'applications
- L'intervalle entre les applications

Les calculs de  $CPE_{\text{eau de surface, mpt}}$  sont réalisés selon l'équation suivante :

$$CPE_{\text{eau de surface, mpt}} = CPE_{\text{eau de surface}} \frac{DT_{50}}{d \cdot \ln(2)} (1 - e^{(-d \cdot \ln(2)/DT_{50})})$$

Ainsi, lorsque la substance active se dissipe de la phase aqueuse, l'aire sous la courbe est calculée et divisée par le nombre de jours, permettant de prendre en compte une exposition constante pendant toute la période considérée.

Tableau II.2 : Paramètres du Bti utilisés pour le calcul des  $CPE_{\text{eau de surface}}$

Substance active :	<b>Bti</b>	
DT50 eau :	1000	Jours
<b>Application</b>		
Dose d'application :	420	g s.a/ha
Nombre d'applications :	3	Applications
Intervalle entre applications :	6	Jours

Tableau II.3 : Résultats de CPE<sub>eau de surface</sub> obtenus pour le *Bti*

CPE <sub>eau de surface, 1 application</sub> :	140,0	µg/L
CPE <sub>eau de surface, dernière application</sub> :	418,3	µg/L

CPE <sub>eau de surface</sub>	Jours après la dernière application	Concentration instantanée (µg/L)	Concentration pondérée (µg/L)
Initiale	0	418,3	418,3
Court terme	1	418,0	418,1
	2	417,7	418,0
	4	417,1	417,7
Long terme	7	416,2	417,2
	14	414,2	416,2
	21	412,2	415,2
	28	410,2	414,2
	42	406,3	412,2

## 6.2.2 Devenir dans les eaux souterraines

En ce qui concerne l'évaluation du risque pour les eaux souterraines, à défaut de Koc directement disponible ou d'étude primaire détaillée sur l'adsorption dans le sol, on ne peut calculer de CPE dans les eaux souterraines. Cependant l'immobilité du *Bti* a été constatée dans plusieurs études (Venkateswerlu & Stotsky, 1992 et Martin & Reichelderfer, 1989) (dans WHO, 1999). De plus, les bactéries du groupe *cereus*, auquel appartient les bactéries d'espèce *Bacillus thuringiensis*, ont la capacité d'adhérer à de nombreuses surfaces, cette adhésion est liée à l'hydrophobicité de la surface des spores (Euzéby J.P., 2003). L'affinité du *Bti* pour les particules du sol permet de considérer que la percolation du *Bti* dans les eaux souterraines est négligeable.

## 6.3 VOIE ET VITESSE DE DEGRADATION DANS LES SEDIMENTS

### 6.3.1 Méthode de calcul

Les Concentrations Prévisibles Environnementales dans les sédiments (CPE<sub>sed</sub>) ont été calculées en considérant le même plan d'eau stagnante que pour les eaux de surface (100\*100\*0,3 m<sup>3</sup>) avec une couche de sédiment de 5 cm de profondeur et une densité sèche de 0,8 g/cm<sup>3</sup> (SSM, 2004)

$$CPE_{sed}(t), (mg/kg) = \frac{CPE_{ini,sw} * V_{sw} * P_{sed}(t)}{V_{sed} * bd_{sed} * 100}$$

Avec :

CPE<sub>ini,sw</sub> : CPE initiale dans les eaux de surface

V<sub>sw</sub> : volume d'eau (300 L)

P<sub>sed</sub>(t) : % de substance active dans le sédiment au temps t

Vsed : volume de sédiment (5000 cm<sup>3</sup> pour une profondeur de 5 cm)  
 bdsed : densité sèche de sédiment (0,8 g/cm<sup>3</sup>)

Une dégradation entre les applications est prise en compte si la substance n'est pas considérée comme stable.

Les concentrations des métabolites sont calculées comme pour la substance active, considérant des applications équivalentes au maximum retrouvé dans le sédiment lors des études en système eau-sédiment.

### 6.3.2 Paramètres considérés

Les paramètres du *Bti* considérés pour le calcul des CPE<sub>sed</sub> sont présentés dans le tableau II.4 :

Tableau II.4 : Paramètres du *Bti* utilisés pour le calcul des CPE<sub>sed</sub>

Substance active	<i>Bti</i>	
CPE <sub>eau de surface, max</sub>	418,25	µg/L
% max dans les sédiments	100	%
DT <sub>50</sub> dans les sédiments	1000	jours
<b>Application</b>		
Dose d'application :	420	g s.a/ha
Nombre d'applications :	3	applications
Intervalle entre les applications :	6	jours

### 6.3.3 Résultats

Les CPE<sub>sed</sub> du *Bti* sont présentées dans le tableau II.5.

Tableau II.5 : Calculs des CPE<sub>sed</sub> pour le *Bti*

CPE <sub>eau de surface, 1 application</sub> :	140	µg/L
CPE <sub>sed, initial</sub> :	3150	µg/kg sédiment sec

CPE <sub>sed</sub>	Jours après la dernière application	Concentration instantanée (µg/kg de sédiment sec)	Concentration pondérée par le temps (µg/kg de sédiment sec)
Initiale	0	3150,0	3150,0
Court terme	1	3147,8	3148,9
	2	3145,6	3147,8
	4	3141,2	3145,6
Long terme	7	3134,8	3142,4
	14	3119,6	3134,8
	21	3104,5	3127,1
	28	3089,5	3119,6
	42	3059,6	3104,6

## 6.4 VOIE ET VITESSE DE DEGRADATION DANS LE SOL

### 6.4.1 Méthode de calcul de CPE<sub>local</sub> sol

Les Concentrations Environnementales Prévisibles dans le sol ont été estimées selon le Document Guide Technique (TGD, 2003). Trois types de CPE<sub>sol</sub> ont ainsi été calculés :

- Ecosystème terrestre
- Cultures pour la consommation humaine
- Pâturage pour le bétail (bovins principalement)

Les concentrations instantanées (CPE<sub>sol,t</sub>) ainsi que les concentrations pondérées par le temps (CPE<sub>sol,mpt</sub>) ont été déterminées pour les 3 cas. En considérant que la substance se dégrade dans le sol selon une cinétique du premier ordre, la relation entre CPE<sub>sol</sub> instantanée et CPE<sub>sol, initiale</sub> après n applications (CPE<sub>ini, n</sub>) s'écrit :

$$CPE_{sol, t} = CPE_{ini, n} e^{-(kt)},$$

k étant la constante de la vitesse de dégradation.

Les CPE<sub>sol</sub> pondérées par le temps (CPE<sub>sol,mpt</sub>) sont obtenues par intégration de l'aire sous la courbe divisée par le nombre de jours considérés, selon la formule suivante :

$$CPE_{sol, mpt} = CPE_{ini, n} \cdot \frac{DT_{50}}{t_i \cdot \ln(2)} (1 - e^{(-t_i \cdot \ln(2)/DT_{50})})$$

Avec :

CPE<sub>ini, n</sub> = CPE initiale dans le sol (mg/kg)

DT<sub>50</sub> = temps de demi-vie de la substance dans le sol (jours). Pour une cinétique du premier ordre, DT<sub>50</sub> = ln 2/k

t<sub>i</sub> = période de temps considérée (jours)

Dans le cas d'applications multiples, la CPE<sub>sol, initiale</sub> après la dernière application est calculée selon la formule :

$$CPE_{ini, n} = \frac{CPE_{ini, 1} (1 - e^{-nki})}{(1 - e^{-ki})}$$

Avec :

CPE<sub>ini, n</sub> = CPE initiale dans le sol (mg/kg) après n applications,

CPE<sub>ini, 1</sub> = CPE initiale dans le sol (mg/kg) après la première application,

n = nombre d'applications

i = intervalle entre les applications (jours),

k = vitesse de dégradation de la substance active dans le sol (j<sup>-1</sup>).

### 6.4.2 Paramètres considérés

Considérant l'usage larvicide du *Bti*, le produit est appliqué par pulvérisation directe sur plan d'eau, ce qui peut entraîner la contamination des sols par dérive de la substance active. Le mode d'application est supposé générer une dérive maximum correspondant à 33,2% de la dose appliquée. Ce coefficient de dérive est présenté dans les documents FOCUS relatifs aux eaux de surface (FOCUS, 2001).

Les  $CPE_{sol}$  du *Bti* ont été calculées en considérant les pire cas d'une dégradation lente (valeur maximum de  $DT_{50}$ ) et d'une dérive de pulvérisation de 33,2% pour une application aérienne. Les résultats sont présentés dans le paragraphe suivant.

Tableau II.6 : Paramètres du *Bti* considérés pour les calculs de  $CPE_{sol}$

Substance : <i>Bti</i>	Value	Unité
Valeur maximale de $DT_{50}$ dans le sol	1000	j
Dose appliquée	420	g s.a./ha
Nombre d'application	3	-
Intervalle entre applications	6	j
Coefficient de dérive	33,2	%
Dose effective appliquée	139,44	g s.a./ha

Pour les 3 types de  $CPE_{sol}$  la densité du sol a été prise égale à  $1,5 \text{ g/cm}^3$  (sol humide).

Tableau II.7 : Profondeurs de sol et périodes de pondération considérées pour chacune des 3  $CPE_{local}$ , sol calculées

	Profondeur du sol (m)	Période de pondération pour le calcul de $CPE_{mpt}$ (jours)	Type de $CPE_{sol}$
$CPE_{local}$ , sol	0,20	30	Ecosystème terrestre
$CPE_{local}$ , agr, sol	0,20	180	Cultures pour la consommation humaine
$CPE_{local}$ , pâturage	0,10	180	Pâturage pour bétail

### 6.4.3 Résultats

Tableau II.8: Résultats obtenus pour les trois types de  $CPE_{local}$  sol - *Bti*

CPE (mg/kg de sol humide)	CPE initiale ( $CPE_{ini, 1}$ )	$CPE_{sol}$ après la dernière application $CPE_{ini, n}$	$CPE_{sol}$ pondérée $CPE_{sol, mpt}$
$CPE_{local}$ , sol	0,046	0,139	0,137
$CPE_{local}$ , agr, sol	0,046	0,139	0,131
$CPE_{local}$ , pâturage	0,093	0,278	0,261

Tableau II.9 : Résultats détaillés de  $CPE_{local\ sol}$  avec une profondeur de sol égale à 0,20 m - Bti

$CPE_{sol, 1\ application, ini.}$	0,046	mg/kg
$CPE_{sol, dernière\ application, ini.}$	0,139	mg/kg

$CPE_{local, sol}$	Jours après la dernière application	Concentration instantanée (mg/kg sol humide)	Concentration pondérée par le temps (mg/kg sol humide)
Initiale	0	0,139	0,139
Court terme	1	0,139	0,139
	2	0,139	0,139
	4	0,138	0,139
Long terme	7	0,138	0,139
	21	0,137	0,138
	30	0,136	0,137
	100	0,130	0,134
	180	0,123	0,131

Tableau II.10 : Résultats détaillés de  $CPE_{local\ sol}$  avec une profondeur de sol égale à 0,10 m - Bti

$CPE_{sol, 1\ application, ini.}$	0,093	mg/kg
$CPE_{sol, dernière\ application, ini.}$	0,278	mg/kg

$CPE_{local, sol}$	Jours après la dernière application	Concentration instantanée (mg/kg sol humide)	Concentration pondérée par le temps (mg/kg sol humide)
Initiale	0	0,278	0,278
Court terme	1	0,278	0,278
	2	0,277	0,278
	4	0,277	0,277
Long terme	7	0,276	0,277
	21	0,274	0,276
	30	0,272	0,275
	100	0,259	0,268
	180	0,245	0,261

## 7 TRANSFERT DES GENES DE BTI

La plupart des gènes codant pour la toxine du *Bti* sont situés dans des plasmides, ADN extra-chromosomique, qui peuvent être transférés de cellule à cellule par mécanisme de conjugaison.

Des études en laboratoire ont démontré la possibilité de transfert de ces plasmides à d'autres espèces bactériennes. Des études ont aussi démontré que les bactéries de type *Bt* (sans précision supplémentaire) devaient être métaboliquement actives pour qu'un transfert puisse être observé, alors que le *Bti* est retrouvé majoritairement sous forme de spores dans l'environnement, forme sous laquelle il est appliqué. Les transferts de gène pourraient apparaître dans des habitats, de type cadavre d'insecte, renfermant une croissance active de *Bt*.

Néanmoins, en dépit de l'utilisation extensive de *Bt* depuis de nombreuses années, aucun exemple de bacille présentant des propriétés pathogènes anormales n'a été rapporté (Glare and O'Callaghan, 1998).

## CONCLUSION

Le *Bacillus thuringiensis* variété *israelensis* est une bactérie que l'on trouve à l'état naturel dans de nombreux compartiments de l'environnement. Le devenir de la bactérie après application comme pesticide est considéré sans risque pour l'environnement par les autorités telles que l'EPA ou l'OMS ; cependant il n'a pas été possible d'extraire de la littérature disponible des données précises pour le calcul de CPE dans l'environnement après 3 applications de 420 g s.a./ha espacées de 6 et 7 jours selon les méthodes réglementaires utilisées pour les substances actives chimiques. Par conséquent des CPE ont été calculées avec des données très conservatives en considérant le *Bti* stable dans l'eau et dans le sol.

Les spores et les  $\delta$ -endotoxines ont montré une faible persistance et n'ont pas démontré de potentiel d'accumulation dans l'environnement. Il a été démontré qu'elles étaient dégradées rapidement sous l'effet des rayonnements U.V.

Le *Bti* a été considéré immobile dans le sol et il est donc peu probable que les nappes phréatiques puissent être contaminées après traitement. Les données disponibles n'ont pas permis de dériver de CPE dans les eaux souterraines.

Le devenir du *Bti* dans l'air n'a pu être évalué faute de données sur la volatilité des préparations et des spores bactériennes. Les quelques données disponibles liées à l'utilisation de produits à base de *Bt* laissent supposer que la période de présence du *Bti* dans l'air après application est courte.

A partir d'hypothèses très conservatrices, les concentrations prévisibles dans l'environnement, instantanées et moyennées ont été calculées, considérant 3 applications sur l'eau de 420 g s.a./ha avec 6 et 7 jours d'intervalle. La dérive de pulvérisation aérienne considérée est de 33,2 %.

Les résultats sont présentés dans le tableau II.11 :

Tableau II.11 : Bilan des Concentrations prévisibles dans l'environnement du *Bti*

<b><i>Bti</i></b>	CPE initiale	CPE max	CPE moyennée	Unités
Eaux de surface	140,0	418,3	412,2 (42 jours)	µg/L
Sédiment	140	3150	3104,6 (42 jours)	µg/kg sédiment sec
Sol	0,046	0,139	0,137 (30 jours)	mg/kg sol humide
Sol, agriculture	0,046	0,139	0,131 (180 jours)	mg/kg sol humide
Sol, pâturage	0,093	0,278	0,261 (180 jours)	mg/kg sol humide

---

## LISTE DES REFERENCES

**Partie I :** Liste des revues issues des organismes officiels et utilisées pour la constitution de ce document :

- EPA (1998) Reregistration Eligibility Decision (RED) *Bacillus thuringiensis*
- Florida Coordinating Council on Mosquito Control (1998) Florida Mosquito Control: The state of the mission as defined by mosquito controllers, regulators, and environmental managers. University of Florida; Vero Beach, FL, USA
- Glare T.R. et O'Callaghan M. (1998) Environmental & health impacts of *Bacillus thuringiensis israelensis*, Report for the Ministry of Health, Nouvelle-Zélande
- Lacoursière J.O. et Boisvert J. (2004) Le *Bacillus thuringiensis israelensis* et le contrôle des insectes piqueurs au Québec, Envirodoq : ENV/2004/0278, sur <http://www.mddep.gouv.qc.ca/pesticides/virus-nil/bti/index.htm#resume>
- PSD (1992) Advisory Committee on Pesticides. Evaluation on: *Bti* (2). Issue No. 105.
- WHO (1999), Environmental Health Criteria 217 – Microbial Pest Control Agent *Bacillus thuringiensis*
- WHO (2005) Report of the 9<sup>th</sup> Working Group Meeting. December 2005

**Partie II :** Liste des documents utilisés pour la constitution de ce document :

- DAF Réunion (2006), Note technique de la Direction de l'Agriculture et de la Forêt de la Réunion sur les « Bonne pratique de lutte individuelle contre la maladie du Chikungunya et son moustique vecteur en milieu agricole à la Réunion » 2006
- Danish EPA (2005) Quantification and Identification of Active Microorganisms in Microbial Plant Protection Products - Environmental Project Nr. 982
- De Respinis S *et al.* (2006) Molecular identification of *Bacillus thuringiensis var. israelensis* to trace its fate after application as a biological insecticide in wetland ecosystems. Letters in Applied Microbiology, 43, 495–501
- DIREN Réunion (2006) Présentation des résultats du réseau d'alerte, volet: "Surveillance des eaux douces", version finale, juin 2006
- DRASS Réunion (2006) Présentation SECURITE et PROTECTION : Les produits, Protection des applicateurs, Prévention dans l'environnement traité ; disponible à l'adresse suivante : [http://www.reunion.sante.gouv.fr/dossier\\_chik/intervention2.pdf](http://www.reunion.sante.gouv.fr/dossier_chik/intervention2.pdf)
- Euzéby J.P. Dictionnaire de bactériologie vétérinaire. 2003. <http://www.bacterio.cict.fr/bacdico/systematique/annexeun.html>
- FOCUS (2001). "FOCUS Surface Water Scenarios in the EU Evaluation Process under 91/414/EEC". Rapport du groupe de travail FOCUS sur les Scénarios Eaux de Surface, Document EC Référence SANCO/4802/2001-rev.2. 245 pp
- Griffiths and Aroian. (2005). Many roads to resistance : how invertebrates adapt to Bt toxins. BioEssays 27 : 614-624

- Guerchicoff A, Ugalde RA and Rubinstein CP. (1997). Identification and characterization of a previously undescribed cyt gene in *Bacillus thuringiensis* subsp. *israelensis*. *Appl. Environ. Microbiol.* 63: 2716-2721
- Health Canada (2004) Canadian Handbook on Health Impact Assessment - Volume 4: Health Impacts By Industry Sector. November 2004; disponible à l'adresse suivante : [http://www.hc-sc.gc.ca/ewh-semt/pubs/eval/handbook-guide/vol\\_4/forestry-forets\\_e.html](http://www.hc-sc.gc.ca/ewh-semt/pubs/eval/handbook-guide/vol_4/forestry-forets_e.html)
- Ministère de la santé et de la Protection Sociale (2004) Circulaire DGS/SD5B/DGAI/DNP n° 2004-341 du 15 juillet 2004 relative aux mesures visant à limiter la circulation du virus West Nile en France métropolitaine
- Perez C, Fernandez LE, Sun J, Folch JL, Gill SS, Soberon M and Bravo A. (2005). *Bacillus thuringiensis* subsp. *israelensis* Cyt1Aa synergizes Cry11Aa toxin by functioning as a membrane-bound receptor. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 52:18303-18308
- TGD (2003) Technical Guidance Document on risk assessment, Institute for Health and Consumer Protection, European Chemical Bureau, EUR 20418 EN/2, 2003
- SSM (2004) Evaluation du risque environnemental des produits phytopharmaceutiques. Révision 6-5, octobre 2004. Commission d'étude de la toxicité des produits antiparasitaires à usage agricole et des produits assimilés des matières fertilisantes et des supports de culture
- Valent Biosciences (2003a) Material Safety Data Sheet for VECTOBAC® WDG – GNATROL® DG by Valent Biosciences Corporation. Issued 04/16/03
- Valent Biosciences (2003b) Material Safety Data Sheet for VECTOBAC® G. Issued 06/19/03
- Wirth MC, Park HW, Walton WE and Federici BA. (2005). Cyt1A of *Bacillus thuringiensis* delays evolution of resistance to Cry11A in the mosquito *Culex quinquefasciatus*. *Appl. Environ. Microbiol.* 59: 815-821

**Partie III:** Liste des références primaires des études citées dans ce document :

- Akiba Y (1986) Microbial ecology of *Bacillus thuringiensis*: VI. Germination of *Bacillus thuringiensis* spores in the soil. *Appl Entomol Zool*, 21: 76–80.
- Bernier RL Jr, Gannon DJ, Moser GP, Mazzarello M, Griffiths MM, & Guest PJ (1990) Development of a novel Bt strain for the control of forestry pests. In: Brighton Crop Protection Conference — Pests and Diseases — 1990: Proceedings. Farnham, Surrey, British Crop Protection Council, pp 245–252.
- Boisvert, M. et J. Boisvert. (1999) Persistence of toxic activity and recycling of *Bacillus thuringiensis* var. *israelensis* in cold water: Field experiments using diffusion chambers in a pond. *Biocontrol Science and Technology.* 9 : 507- 522.
- Davidson, E. W., A. W. Sweeney et R. Cooper (1981) Comparative field trials of *Bacillus sphaericus* strain 1593 and *Bacillus thuringiensis* var. *israelensis* commercial powder formulations. *Journal of Economic Entomology.* 74 : 350- 354.
- Dent DR (1993) The use of *Bacillus thuringiensis* as an insecticide. In: Jones DG ed. *Exploitation of microorganisms*. London, Chapman & Hall, pp 19–44.

- Dupont C. et J. Boisvert (1985) Persistence of *Bacillus thuringiensis* serovar. *israelensis* toxic activity in the environment and interaction with natural substrates. *Water Air and Soil Pollution*. 29 : 425-438.
- Griego VM & Spence KD (1978) Inactivation of *Bacillus thuringiensis* spores by ultraviolet and visible light. *Appl Environ Microbiol*, 35: 906–910.
- Khawaled K, Ben-Dov E, Zaritsky A, & Barak Z (1990) The fate of *Bacillus thuringiensis* var. *israelensis* in *B. thuringiensis* var. *israelensis*-killed pupae of *Aedes aegypti*. *J Invertebr Pathol*, 56: 312–316.
- McLaughlin, R. E. et J. Billodeaux (1983) Effectiveness of *Bacillus thuringiensis* var. *israelensis* against *Psorophora columbiae* breeding in rice fields. *Mosquito News*. 43 : 30-33.
- Martin WF & Reichelderfer CF (1989) *Bacillus thuringiensis*: Persistence and movement in field crops. In: Abstracts of the SIP XXII<sup>nd</sup> Annual Meeting, Centre for Adult Education, University of Maryland, College Park, Maryland, 20–24 August 1989. Society for Invertebrate Pathology, p 25.
- Meadows MP (1993) *Bacillus thuringiensis* in the environment: Ecology and risk assessment. In: Entwistle PF, Cory JS, Bailey MJ, & Higgs S ed. *Bacillus thuringiensis*, an environmental biopesticide: Theory and practice. Chichester, New York, Toronto, Wiley & Sons, pp 193–220.
- Mulla, M. S., H. A. Darwazeh, L. Ede, B. Kennedy et H. T. Dulmage (1985) Efficacy and field evaluation of *Bacillus thuringiensis* (H-14) and *B. sphaericus* against floodwater mosquitoes in California. *Journal of the American Mosquito Control Association*. 1: 310-315.
- Mulligan, F. S., C. H. Schaffer et W. H. Wilder (1980) Efficacy and persistence of *Bacillus sphaericus* and *B. thuringiensis* H-14 against mosquitoes under laboratory and field conditions. *Journal of Economic Entomology*. 73 : 684- 688
- Ohana B, Margalit J, & Barak Z (1987) Fate of *Bacillus thuringiensis* subsp. *Israelensis* under simulated field conditions. *Appl Environ Microbiol*, 53: 828–831.
- Petras SF & Casida LE Jr (1985) Survival of *Bacillus thuringiensis* spores in soil. *Appl Environ Microbiol*, 50: 1496–1501.
- Pinnock DE, Brand RJ, Jackson KL, & Milstead JE (1974) The field persistence of *Bacillus thuringiensis* spores on *Cercis occidentalis* leaves. *J Invertebr Pathol*, 23: 341–346.
- Pinnock DE, Milstead JE, Kirby ME, & Nelson BJ (1977) Stability of entomopathogenic bacteria. In: Environmental stability of microbial insecticides: Miscellaneous publications. Lanham, Maryland, Entomological Society of America, vol 10, pp 77–97.
- Pusztai M, Fast P, Gringorten L, Kaplan H, Lessard T, & Carey PR (1991) The mechanism of sunlight-mediated inactivation of *Bacillus thuringiensis* crystals. *Biochem J*, 273: 43-47.
- Sheeran, W. et S. W. Fisher (1992) The effects of agitation, sediment, and competition on the persistence and efficacy of *Bacillus thuringiensis* var. *israelensis* (*Bti*). *Ecotoxicology and Environmental Safety*. 24 : 338-346.
- Stahly DP, Andrews RE, & Yousten AA (1991) The genus *Bacillus*-insect pathogens. In: Balows A, Truper HG, Dworkin M, Harder W, & Schleifer K-H ed. *The prokaryotes*, 2nd ed. New York, Basel, Springer-Verlag, vol II, pp 1697–1745

- 
- Venkateswerlu G & Stotzky G (1992) Binding of the protoxin and toxin proteins of *Bacillus thuringiensis* subsp. *kurstaki* on clay minerals. *Curr Microbiol*, 25: 225–233.
  - West AW, Burges HD, & Wyborn CH (1984a) Effect of incubation in natural and autoclaved soil upon potency and viability of *Bacillus thuringiensis*. *J Invertebr Pathol*, 44: 121–127.
  - West AW, Burges HD, White JR, & Wyborn CH (1984b) Persistence of *Bacillus thuringiensis* parasporal crystal insecticidal activity in soil. *J Invertebr Pathol*, 44: 128–133.
  - Yousten AA, Genthner FJ, & Benfield EF (1992) Fate of *Bacillus sphaericus* and *Bacillus thuringiensis* serovar *israelensis* in the aquatic environment. *J Am Mosq Control Assoc*, 8: 143–148.



CEHTRA  
43 rue Laroque  
33560 Sainte Eulalie  
France

Tel (33) 5 57 77 56 10  
Fax (33) 5 57 77 56 20  
[www.cehtra.fr](http://www.cehtra.fr)

## ***Bacillus thuringiensis israelensis (Bti)***

### **III-Evaluation du risque écotoxicologique**

**DATE**

**Juillet 2007**

## TABLE DES MATIERES

<b>1. INTRODUCTION.....</b>	<b>223</b>
1.1. Informations sur la préparation VECTOBAC® WG .....	223
1.2. Informations sur la préparation VECTOBAC® G.....	224
<b>2. Effets sur les organismes aquatiques.....</b>	<b>225</b>
2.1. Toxicité du Bti sur les organismes .....	225
2.1.1. Données de laboratoire	225
2.2. Evaluation du risque pour les organismes aquatiques .....	228
2.2.1. Evaluation initiale du risque	228
2.2.2. Etudes de terrain	229
<b>3. Effets sur les oiseaux et les mammifères.....</b>	<b>232</b>
3.1. Toxicité du Bti.....	232
3.1.1. Toxicité sur les oiseaux	232
3.1.2. Toxicité sur les mammifères	232
3.2. Evaluation du risque pour les oiseaux et les mammifères .....	233
3.2.1. Risque pour les animaux se nourrissant de végétation et d'insectes dans les zones adjacentes	233
3.2.2. Risque pour les animaux se nourrissant de vers de terre dans les zones adjacentes	240
3.2.3. Risque pour les organismes consommant l'eau traitée	240
3.2.4. Risque pour les animaux se nourrissant de poissons	241
3.2.5. Etudes de terrain	242
3.2.6. Conclusion générale pour les oiseaux et mammifères	245
<b>4. EFFETS du Bti sur la faune non cible .....</b>	<b>246</b>
4.1. Effets sur les abeilles.....	246
4.1.1. Etude de laboratoire	246
4.1.2. Etudes de terrain	246
4.1.3. Conclusion	247
4.2. Effets sur les insectes non-cibles aquatiques.....	248
4.2.1. WHO (1999)	248
4.2.2. EPA (1998)	250
4.2.3. Lacoursière et Boisvert (2004)	251
4.2.4. Conclusion	251
4.3. Effets sur les insectes non-cibles terrestres .....	251
4.4. effets sur les vers de terre.....	252
<b>5. Conclusion générale .....</b>	<b>253</b>

## 1 INTRODUCTION

Le *Bacillus thuringiensis var. israelensis (Bti)* est un larvicide particulièrement actif sur les larves de Diptères Culicidés. Il s'agit d'une bactérie vivant naturellement dans les marais. L'effet larvicide est obtenu après ingestion par les organismes exposés d'un cristal composé de 4 protoxines, résultant de la sporulation de la bactérie. Sous certaines conditions de pH et de composition enzymatique dans le tube digestif des organismes exposés, les protoxines inactives sont transformées en toxines actives qui vont se fixer sur les récepteurs spécifiques présents sur les cellules de l'épithélium intestinal entraînant la lyse des cellules et la mort de l'insecte. L'action du *Bti* est donc spécifique car il n'agit que dans une étroite gamme de pH intestinal. Cependant une partie de la faune non cible peut être affectée par un traitement au *Bti*, en particulier les peuplements de Diptères Chironomidés.

Pour chaque niveau trophique et compartiment environnemental pertinent, les données de toxicité sont comparées avec les valeurs de concentration prédites dans l'environnement telles qu'elles ont été dérivées dans la section environnementale afin de caractériser le risque écotoxicologique. En raison de la spécificité de son mode d'action, le *Bti* n'entraîne pas d'effets sur la majorité des organismes non cibles. Cependant, en raison de l'absence de données pertinentes pour estimer quantitativement le devenir du *Bti* dans l'environnement, les valeurs de concentration prédites dans l'environnement ont été dérivées pour des conditions très conservatrices. Afin de ne pas surestimer les risques liés à l'utilisation du *Bti*, l'estimation des risques a été mise en perspective pour chaque compartiment étudié par rapport aux données existantes relatives aux études de cas réalisées sur le terrain où le *Bti* est largement utilisé depuis de nombreuses années sans qu'aucun effet nocif majeur n'ait été observé sur les organismes non cibles.

En l'absence de données d'écotoxicité pertinentes sur les préparations et leurs co-formulants, l'évaluation du risque est essentiellement basée sur les données de toxicité de la substance active, tout en étant adaptée aux conditions d'application des préparations utilisées sur l'Île de la Réunion dans le cadre de la lutte antivectorielle (LAV).

Les résultats des études d'écotoxicologie sont présentés au même degré de précision que dans les revues des organismes officiels. Dans la majorité des revues consultées, il manque des informations sur la nature du matériel testé (cellules végétatives, spores,  $\delta$ -endotoxines : proportion entre les différents composants ; impuretés, degré de pureté de l'organisme ; viabilité de l'organisme).

### 1.1 INFORMATIONS SUR LA PREPARATION VECTOBAC® WG

Nom:	VECTOBAC® WG
Type de préparation:	Granulé à disperser dans l'eau (code GIFAP : WG)
Substance active et concentration:	<i>Bacillus thuringiensis israelensis (Bti)</i> 42 %, 3000 UTI/mg
Fonction:	Insecticide (larvicide)

---

Dose d'application maximum:	1 kg VECTOBAC® WG/ha, soit 420 g s.a./ha
Nombre d'application:	Trois par an avec un intervalle minimal de 6 ou 7 jours entre 2 applications

---

## 1.2 INFORMATIONS SUR LA PREPARATION VECTOBAC® G

---

Nom:	VECTOBAC® G
Type de préparation:	Granulé (code GIFAP : GR)
Substance active et concentration:	<i>Bacillus thuringiensis israelensis</i> (Bti) 2,8 %, 200 UTI/mg
Fonction:	Insecticide (larvicide)
Dose d'application maximum:	15 kg VECTOBAC® G/ha, soit 420 g s.a./ha
Nombre d'application:	Trois par an avec un intervalle minimal de 6 ou 7 jours entre 2 applications

Les principales données quantitatives de toxicité du *Bti* sont issues de la revue faite par l'Agence américaine de Protection de l'Environnement (EPA, 1998). La revue bibliographique reprise dans ce document provient de l'évaluation faite par l'Organisation Mondiale de la Santé (WHO, 1999) dont les principales conclusions sont similaires à la revue faite par Glare et O'Callaghan (1998) et actualisée par Stark (2005) pour le Ministère de la Santé de la Nouvelle-Zélande.

Les rapports d'étude n'ont pas été accessibles pour le rédacteur de ce document. Cette évaluation est donc basée sur les documents de revue préalablement rédigés par des organismes officiels (références indiquées en partie I de la liste des références). Les références primaires des rapports d'étude sont indiquées en partie III de la liste des références.

Le *Bacillus thuringiensis* var. *israelensis* (Bti), est un larvicide biologique homologué au Canada depuis 1982. En 1994, le ministère de l'Environnement demandait aux chercheurs de l'Université du Québec à Trois-Rivières de produire un document sur le *Bti* et sur le contrôle des insectes piqueurs au Québec. Ce document traitait du rôle des insectes piqueurs dans l'environnement, entre autres, et donnait des informations générales sur le *Bti* (ex. : mode d'action, paramètres influençant les applications de contrôle) et sur les impacts environnementaux de l'utilisation du *Bti* sur la faune non ciblée, sur les écosystèmes aquatiques, sur la chaîne alimentaire, sur le développement potentiel d'une résistance au *Bti*. Ce document disponible sur Internet a été mis à jour en 2004 (Lacoursière et Boisvert, 2004).

L'analyse de l'information publiée indique que le *Bti* est sécuritaire pour les organismes vertébrés et invertébrés non cibles, et qu'il n'affecte qu'un très petit groupe d'insectes. Une compilation de 77 articles scientifiques rapportant de façon explicite les effets observés lors de traitement au *Bti* en laboratoire et sur le terrain témoignent que parmi 616 taxons d'organismes aquatiques définis comme non cibles (organismes autres que le moustique et la mouche noire), plus de 15 % démontrent une réaction (mortalité, réduction en nombre ou

accroissement de la dérive) suivant l'application du produit. De ces 98 taxons, 62 % (61 taxons) ont été exposés à des concentrations de *Bti* de 5 à 1000 fois la dose suggérée selon le mode d'emploi ou par le producteur. Près de 45 % (41 taxons) des organismes non cibles ayant démontré une réaction à un traitement sont des chironomides (moucheons qui ne piquent pas, proches parents des moustiques et des mouches noires) qui meurent dans près de 80 % (32 taxons) des cas, dont 72 % (23 taxons) sont des tests en surdosage. Outre les chironomides qui dans plusieurs pays sont maintenant considérés comme des espèces cibles lorsqu'ils causent une nuisance (principalement dans les bassins de décantation des usines de traitement des eaux usées, où les doses suggérées sont de 10 à 100 fois celles qui sont recommandées pour les moustiques), les 57 taxons ayant démontré une réaction à un traitement sont de façon majoritaire membres des diptères, trichoptères, plécoptères, éphémères, lépidoptères et hémiptères de même que quelques vers, crustacés, gastéropodes, poissons et algues. Près de 60 % (31 taxons) de ces organismes sont morts, tous à la suite d'une exposition en des conditions extrêmes de surdosage.

L'innocuité du *Bacillus thuringiensis* var. *israelensis* envers les organismes non cibles évoluant dans les mêmes habitats que les larves de moustiques et de mouches noires est bien établie. Les marges de sécurité par rapport aux doses (concentrations et temps de contact) opérationnelles appliquées sur le terrain indiquent que l'emploi du *Bti* est sécuritaire pour les micro- et les macro-invertébrés, les poissons, les batraciens et autres vertébrés.

Dans le cadre de l'étude des impacts sur l'environnement de l'utilisation de biocides dans la lutte antivectorielle (LAV) à la Réunion, le Préfet de la Réunion a demandé à la Direction Régionale de l'Environnement (DIREN) de la Réunion, en février 2006, de réunir un comité scientifique et de susciter des études visant à évaluer l'impact sur l'environnement de l'utilisation de traitements insecticides dans la lutte contre les moustiques vecteurs de Chikungunya. Ces études ont fait l'objet de rapports, disponibles sur Internet (<http://www.chikungunya.gouv.fr/spip.php?rubrique17>) et résumés en partie dans l'évaluation suivante (DIREN Réunion, 2006).

## 2 EFFETS SUR LES ORGANISMES AQUATIQUES

### 2.1 TOXICITE DU BTI SUR LES ORGANISMES

La toxicité du *Bti* a été évaluée en laboratoire sur diverses espèces aquatiques.

#### 2.1.1 Données de laboratoire

Avec des CL<sub>50</sub> aqueuses variant de  $8,7 \cdot 10^9$  à  $1,4 \cdot 10^{10}$  ufc<sup>12</sup>/L, aucune toxicité ou pathogénicité n'est montrée chez les poissons.

Avec une CL<sub>50</sub> comprise entre 5 et 50 ppm, le *Bti* peut être considéré comme modérément toxique pour les daphnies.

Les études conduites sur les espèces marines et estuariennes ne montrent aucune toxicité ou pathogénicité du *Bti* sur les copépodes et les crevettes.

Pour avoir un effet toxique, les  $\delta$ -endotoxines du *B. thuringiensis* doivent être ingérées par un organisme et exposées aux enzymes digestives appropriées à un pH de 9,0 à 10,5. Par conséquent, elles sont sans effet sur les végétaux terrestres, semi-aquatiques et aquatiques.

<sup>12</sup> Unités formant des colonies

Ainsi, la toxicité du *Bti* sur les algues et les plantes aquatiques n'a fait l'objet d'aucune recherche et aucune donnée de littérature n'est disponible.

De plus, malgré l'utilisation très répandue de cet agent antiparasitaire sur les végétaux, la littérature scientifique ne fait état d'aucun autre effet nocif causé par les différentes toxines issues des souches du *B. thuringiensis*. Il semblerait par ailleurs que les végétaux puissent bénéficier indirectement de la réduction des populations d'insectes cibles.

Les données de toxicité reportées dans le tableau III.1 n'ont pas toutes les mêmes unités puisqu'elles sont exprimées en mg/L ou en ufc/L. Cependant, elles montrent toutes la quasi-absence de toxicité du *Bti* sur 4 espèces de poissons, et une toxicité modérée sur les daphnies.

Tableau III.1: Données de toxicité du *Bti* sur les organismes aquatiques

Espèce	Conditions du test	CL/CE <sub>50</sub>	Référence
<b>Poisson</b>			
Truite arc-en-ciel <i>Onchorhynchus mykiss</i>	VECTOBAC technique ( <i>Bti</i> ), dynamique, 32 j, EPA 154.19	Aqueuse CL <sub>50</sub> > 8,7.10 <sup>9</sup> ufc/L ≈ 292 mg s.a./L <sup>1</sup> Orale CL <sub>50</sub> > 1,7.10 <sup>10</sup> ufc/g nourriture Légèrement toxique	EPA (1998)
Truite arc-en-ciel <i>Onchorhynchus mykiss</i>	<i>Bti</i> , dynamique, 32 j, EPA 154.19	Aqueuse CL <sub>50</sub> > 1,4.10 <sup>10</sup> ufc/L ≈ 470 mg s.a./L <sup>1</sup> Orale CL <sub>50</sub> > 5,3.10 <sup>9</sup> ufc/g nourriture	EPA (1998)
Truite arc-en-ciel <i>Onchorhynchus mykiss</i>	Préparation VECTOBAC	> 370 mg/L	BioPesticide Manual (2001)
Crapet arlequin, <i>Lepomis macrochirus</i>	VECTOBAC technique ( <i>Bti</i> ), 30 j, dynamique, EPA 154.19	Aqueuse CL <sub>50</sub> > 8,9.10 <sup>9</sup> ufc/L ≈ 299 mg s.a./L <sup>1</sup> Orale CL <sub>50</sub> > 1,3.10 <sup>10</sup> ufc/g nourriture	EPA (1998)
Crapet arlequin, <i>Lepomis macrochirus</i>	<i>Bti</i> , dynamique, 30 j, EPA 154.19	Aqueuse CL <sub>50</sub> > 1,6.10 <sup>10</sup> ufc/L ≈ 538 mg s.a./L <sup>1</sup> Orale CL <sub>50</sub> > 4,3.10 <sup>9</sup> ufc/g nourriture	EPA (1998)
Crapet arlequin, <i>Lepomis macrochirus</i>	Préparation VECTOBAC	> 600 mg/L	BioPesticide Manual (2001)
Vairon à tête de mouton <i>Cyprinodon variegatus</i>	VECTOBAC technique ( <i>Bti</i> ), 30 j, dynamique	Orale CL <sub>50</sub> > 2.10 <sup>10</sup> ufc/g nourriture DSEO > 2.10 <sup>10</sup> ufc/g nourriture ≈ 672 mg/g <sup>1</sup> nourriture	EPA (1998)
Vairon à tête de mouton <i>Cyprinodon variegatus</i>	-	CL <sub>50</sub> > 7,2.10 <sup>9</sup> ufc/g nourriture ≈ 242 mg/g <sup>1</sup> nourriture Pratiquement non toxique	EPA (1998)

Espèce	Conditions du test	CL/CE <sub>50</sub>	Référence
Guppy <i>Toecilia reticulata</i>	Préparation TEKNAR, 96 h	CL <sub>50</sub> > 156 mg/L	BioPesticide Manual (2001)
<b>Invertébrés</b>			
<i>Daphnia magna</i>	VECTOBAC technique ( <i>Bti</i> ), 21 j, EPA 154.20	5 < CE <sub>50</sub> < 50 ppm Modérément toxique	EPA (1998)
<i>Daphnia pulex</i>	<i>Bti</i> technique, 96 h	CE <sub>50</sub> > 25 mg/L	BioPesticide Manual (2001)
Crevette <i>Palaemonetes vulgaris</i>	VECTOBAC technique ( <i>Bti</i> ), 31 j, dynamique, EPA 54.21	DSEO > 2.10 <sup>10</sup> ufc/g nourriture ≈ 672 mg/g <sup>1</sup> nourriture	EPA (1998)
Crevette <i>Palaemonetes vulgaris</i>	<i>Bti</i> , 30 j, dynamique	DSEO > 4,2.10 <sup>9</sup> ufc/g nourriture ≈ 141 mg/g <sup>1</sup> nourriture Pratiquement non toxique	EPA (1998)
<b>Organisme vivant dans les sédiments</b>			
Copepode benthique harpacticoïde <i>Amphiascus minutus</i>	<i>Bti</i> , chronique	DSEO = 50 mg/kg sediment	EPA (1998)

<sup>1</sup> : 1 ufc = 3,36.10<sup>-8</sup> mg (cf point 3 de la partie II - Propriétés physico-chimiques et Evaluation du risque pour l'Environnement)

Dans l'évaluation faite par la Pesticide Safety Directorate (PSD, 1992), organisme de direction du Department of Environment, Food and Rural Affairs (Defra), responsable de l'homologation des pesticides au Royaume-Uni, diverses études sur l'effet du *Bti* sur les organismes aquatiques ont été revues par les experts du PSD. Ces études citées ci-dessous n'ont pas été revues dans ce document. Seuls les conclusions du PSD sont reprises.

Diverses préparations ont été testées jusqu'à des doses de 1,5 mg *Bti*/L. Elles n'ont eu aucun effet néfaste sur 26 espèces d'invertébrés non cibles (Gaugler et Finney, 1982 dans PSD, 1992). Seuls certains individus de Nématocères (sous ordre des diptères) ont été affectés (Merritt *et al.*, 1989 dans PSD, 1992).

Une étude a été conduite dans laquelle une préparation contenant du *Bti* a été appliquée à une concentration finale de 22,5 ppm. Cette étude a permis de conclure que :

- il n'y a eu aucun effet significatif du *Bti* sur la biomasse (totale, taille...) de 20 familles d'invertébrés aquatiques,
- le *Bti* n'a pas eu d'effets significatifs sur les crapets de roche en liberté ou en cages (Frommer *et al.*, 1981 dans PSD, 1992).

Le pH de l'intestin des poissons n'est pas adapté pour solubiliser les endotoxines. Il est aussi également peu probable que les espèces de poissons possèdent les enzymes requises pour l'activation des protoxines en toxines.

---

## 2.2 EVALUATION DU RISQUE POUR LES ORGANISMES AQUATIQUES

---

L'évaluation de risques est basée sur le calcul des CPSE (Concentration Prévisible Sans Effet). Pour suivre l'approche décrite dans le TGD (2003), la CPSE est la concentration au-dessous de laquelle aucun effet nuisible n'est prévu. La CPSE est établie à partir des données de toxicité de la substance active et de la préparation, affectées de facteurs de sécurité appropriés donnés dans le TGD.

La CPSE désigne une concentration pour laquelle il n'est pas attendu d'effet sur l'ensemble des organismes aquatiques. La CPSE de référence est la valeur jugée la plus appropriée dans le cadre de l'évaluation de risque.

### 2.2.1 Evaluation initiale du risque

Une estimation a été faite pour donner une équivalence entre les quantités de *Bti* en g/ha et en ufc/ha (cf point 3 de la partie II - Propriétés physico-chimiques et Evaluation du risque pour l'Environnement).

$$420 \text{ g } Bti/ha = 1,25 \cdot 10^{13} \text{ ufc/ha}$$

Ce facteur de conversion nous a permis de convertir les données de toxicité aquatique exprimée en ufc en g, et de pouvoir en comparer les ordres de grandeur.

Nous disposons de données de toxicité aiguë sur 4 espèces de poissons, avec des  $CL_{50}$  variant de 156 à quelques centaines de mg/L et de 2 données de toxicité aiguë sur les invertébrés.

Pour avoir un effet toxique, les  $\delta$ -endotoxines du *B. thuringiensis* doivent être ingérées par un organisme et exposées aux enzymes digestives appropriées à un pH de 9,0 à 10,5. En conséquence, elles sont sans effet sur les végétaux semi-aquatiques et aquatiques et aucune donnée n'est disponible sur les algues et les plantes aquatiques.

Une donnée de toxicité chronique DSEO est disponible pour une espèce de poissons (*Cyprinodon variegatus*), et une DSEO est donnée pour les invertébrés autres que daphnies.

Selon les recommandations du TGD (2003) et parce que peu de données de toxicité sont disponibles, un facteur de sécurité de 1000 est affecté aux données de toxicité aiguë sur *Daphnia pulex* pour la détermination de la CPSE.

L'utilisation d'un facteur d'incertitude de 1000 permet de protéger l'écosystème de l'ensemble des variations et incertitudes.

$$CE_{50} (96 \text{ h}) > 25 \text{ mg/L sur } Daphnia \text{ pulex}$$

$$\text{D'où } CPSE_{Bti} = 25 \text{ } \mu\text{g/L}$$

Or la concentration prévisible dans les eaux de surface calculée dans la section environnement de cette évaluation est de :

$$CPE_{\text{eau de surface}} = 140,0 \text{ } \mu\text{g/L après 1 application}$$

$$CPE_{\text{eau de surface}} = 418,3 \text{ } \mu\text{g/L après 3 applications}$$

Le rapport CPE/CPSE ( $418,3 / 25 = 16,7$ ) calculé dans des conditions très conservatrices conduit à une préoccupation importante pour les organismes aquatiques dans les conditions proposées d'utilisation.

Cependant, des études de suivi des organismes aquatiques suite à des applications de préparation à base de *Bti* sont reportées au paragraphe suivant. L'évaluation des effets sur les populations et communautés non cibles des traitements insecticides ponctuels ou répétés est généralement conduite sur le terrain, en milieux naturels ou semi-naturels.

À l'exception d'une étude qui indique une diminution possible du nombre d'espèces prédatrices, la grande majorité des études concluent qu'aucun effet négatif n'est apparu sur le développement et la structure des communautés non cibles lors de traitements de populations de moustiques.

## 2.2.2 Etudes de terrain

### Revue bibliographique

Les conclusions suivantes sont extraites de l'évaluation faite par Lacoursière et Boisvert (2004).

Chez la mouche noire, l'effort le plus soutenu visant le contrôle des populations pestes est celui de l'Organisation mondiale de la santé (OMS) qui, en Afrique de l'Ouest, traite hebdomadairement entre 1974 et 1998 plusieurs rivières avec du *Bti* et quelques insecticides chimiques afin d'enrayer la propagation de l'onchocercose — une maladie causée par un parasite transmis par la morsure des mouches noires. Tout comme on aurait pu le prévoir durant des études à court terme, les tanytarsinides du groupe des chironomides furent les espèces non cibles les plus sensibles au *Bti*, démontrant une raréfaction au cours des ans. Bien que moindre, une réduction des Leptoceridae (trichoptères à prédominance détritivore) fut aussi remarquée. Cependant, aucune diminution notable du nombre global d'invertébrés attribuable au traitement à long terme ne fut observée compte tenu de l'augmentation d'autres taxons comme les hydropsyches et les philopotamides — prédateurs opportunistes des larves de mouches noires (Dejoux et Elouard 1990, Crosa *et al.* 2001 dans Lacoursière et Boisvert, 2004). Selon les auteurs de la dernière évaluation, la faible diminution du nombre total d'invertébrés non cibles observée était plutôt attribuable à l'augmentation graduelle des débits annuels au cours des dernières années de traitement (Crosa *et al.* 2001 dans Lacoursière et Boisvert, 2004). Ce suivi environnemental n'a également révélé aucun impact direct ou indirect de ces traitements hebdomadaires (*Bti* et larvicides chimiques utilisés en rotation pour éviter le développement de résistance) sur les populations de poissons de la région (Kurtak *et al.* 1987 dans Lacoursière et Boisvert, 2004). De plus, après une période de 14 ans, aucune évidence d'effets négatifs à long terme sur la structure de la communauté des invertébrés de ces rivières et la fonctionnalité des écosystèmes ne s'impose (Calamari *et al.* 1998, Crosa *et al.* 2001 dans Lacoursière et Boisvert, 2004).

En Amérique du Nord, des conclusions semblables émergent du suivi des impacts directs (mortalité) et indirects (effets sur le réseau trophique) de traitements continus au *Bti*, instaurés en 1985 par l'État de la Pennsylvanie (États-Unis) sur plus de 2 650 km de cours d'eau (52 ruisseaux et rivières), pour contrôler la nuisance occasionnée par la mouche noire *Simulium jenningsi*. Une étude détaillée de l'un de ces réseaux (la rivière Susquehanna) s'étalant sur une période de cinq ans établit que, bien que 26 taxons aient démontré une réponse aux traitements, aucune évidence reconnaît que ces traitements annuels affectent les macro-invertébrés non cibles et les poissons de manière à entraîner des changements écologiques significatifs de la structure et de la fonction de cette rivière (Jackson *et al.* 2002 dans Lacoursière et Boisvert, 2004). Une étude antérieure par Molloy (1992) (dans

Lacoursière et Boisvert, 2004) démontre également qu'après deux ans de traitements annuels au *Bti*, aucun effet négatif sur la communauté non cible d'une rivière des montagnes Adirondack de l'État de New York n'a été observé.

Chez les moustiques, bien qu'il existe dans le monde de nombreux programmes de traitement à base de *Bti*, comme en Allemagne où 100 villes et villages sont traités depuis 1976 (Becker 2003 dans Lacoursière et Boisvert, 2004), et au Minnesota (États-Unis) où depuis 1984 plus de 500 km<sup>2</sup> sont traités annuellement au *Bti*, peu d'études sur les effets environnementaux à long terme ont été publiées dans la littérature scientifique. Seule une étude s'étalant sur cinq ans, dont trois ans de traitements intensifs au *Bti* (six épandages sur trois mois, entre 1991 et 1993), a examiné explicitement l'effet de ces traitements sur la structure et le fonctionnement de l'écosystème (Hershey *et al.* 1998; Niemi *et al.* 1999 dans Lacoursière et Boisvert, 2004). D'après ces auteurs, après un délai de deux à trois ans, les traitements auraient causé une réduction dans la richesse des taxons et le nombre total des invertébrés. Ils poursuivent en concluant que ces changements auraient perturbé le réseau trophique chez les invertébrés, sans affecter les populations de zooplancton et d'oiseaux nicheurs. Cependant, un suivi (par d'autres chercheurs) de ces mêmes populations d'invertébrés en 1997 et 1998 a démontré que les effets originellement observés entre des zones traitées et non traitées n'étaient plus aussi apparents malgré l'application intensive et continue de *Bti* depuis 1991 (Balcer *et al.* 2004 dans Lacoursière et Boisvert, 2004).

### Impact sur les eaux douces à la Réunion

L'objectif du réseau d'alerte « surveillance des eaux douces » mis en place par l'ARDA (Association Réunionnaise pour le Développement de l'Aquaculture), l'Office de l'Eau (OLE) et la Brigade de la Nature de l'Océan Indien (BNOI) était d'assurer un suivi de l'impact des traitements dans le cadre de la LAV sur la faune dulçaquicole sur le court terme (ARDA-OLE-BNOI, 2006). Jusqu'au 14 février 2006 les produits de traitement utilisés étaient des insecticides de la classe des organophosphorés : le fénitrothion et le téméphos. A partir du 14 février 2006, la lutte s'est organisée plus efficacement et les insecticides ont changé. On a fait appel à la deltaméthrine et au *Bti*.

### **Méthodologie**

Ce réseau fait intervenir deux approches ciblées sur des secteurs identifiés « à risque » :

- une surveillance des mortalités post-traitements consistant à reconnaître sur site les éventuelles mortalités ponctuelles anormales (reconnaissance visuelle ou par enquête),
- un suivi post-traitement de la faune piscicole et de macro-invertébrés benthiques mettant en oeuvre une campagne spécifique d'échantillonnages standardisés.

Les sites de surveillance ont été sélectionnés selon des critères d'urbanisation, d'hydrologie, de morphologie et de conditions écologiques. Enfin, les stations d'étude ont été localisées de manière superposée ou proche de celles du Réseau de Suivi Piscicole et du Réseau Qualité des Eaux.

*In fine*, les stations étaient localisées dans les secteurs suivants :

- Zone avale du Grand Bras Rivière St-Jean (St-André)
- Zone avale de la Rivière Ste-Suzanne (Ste-Suzanne)
- Zone avale de l'étang St-Paul (St-Paul)
- Cours aval de la Ravine St-Gilles (St-Paul)

Pour l'interprétation des résultats, les données piscicoles et les données sur les macro-invertébrés issues du « Suivi Piscicole » et du « Réseau Qualité » ont servi de référence. Sur l'étang St-Paul les peuplements de poissons ne faisant pas l'objet de suivi, les données issues de l'inventaire réalisé en 1996 (ARDA/DIREN/CSP/Région Réunion) ont servi à titre de comparatif.

Le principe de la surveillance des mortalités est l'observation *in situ* d'éventuels cas de mortalités de poissons et/ou macro-crustacés en s'appuyant sur les agents de la BNOI et sur des enquêteurs relais sur les sites du réseau d'alerte.

Pour le suivi de la faune piscicole, le mode de capture a été la pêche électrique (méthode de pêche « totale », méthode de pêche par ambiances ou méthode de pêche par sondage par point selon les stations). Sur les deux stations en rivières échantillonnées pour les macro-invertébrés aquatiques la méthode de prélèvement utilisée est celle de l'IBGN (indice biologique global normalisé).

Le réseau d'alerte sur les milieux aquatiques a été techniquement mis en oeuvre à partir du 10 avril 2006 par l'initiation des surveillances des mortalités. Par la suite, les échantillonnages du suivi de la faune piscicole et des macro-invertébrés benthiques ont été menés entre le 10 et le 31 mai 2006.

## Résultats

Au cours des surveillances réalisées, aucune mortalité de la faune aquatique n'a été relevée que ce soit par les agents de la BNOI ou par les enquêteurs relais.

Compte tenu de l'absence de mortalité, les dosages de résidus prévus n'ont pas été réalisés. Globalement, les échantillonnages réalisés n'ont pas mis en évidence de dégradation particulière des peuplements de poissons et macro-crustacés au regard de la chronologie des données disponibles.

La comparaison du peuplement observé en mai 2006 avec les séries chronologiques disponibles ne laisse pas apparaître de modification significative dans l'évolution interannuelle du peuplement.

Sur l'étang St-Paul, les sondages réalisés sur la zone des sources de l'étang ont permis de comparer les peuplements en terme de présence/absence des espèces entre les années 1996 et 2006. L'image des peuplements ainsi proposée montre une augmentation de la richesse spécifique observée sur ces zones.

Ces résultats ne permettent pas de proposer une caractérisation de l'état des peuplements, mais ils mettent en évidence une relative stabilité des principales populations sur les stations échantillonnées en 2006.

D'une façon générale, on n'observe pas de récente dégradation majeure des peuplements de poissons et de macro-invertébrés sur les bassins versants du réseau d'alerte.

L'existence de données issues du réseau de surveillance qualité géré par l'Office de l'eau a permis de confronter les résultats obtenus en mai 2006 à une tendance ou une image représentative des portions de cours d'eau étudiés pour des années antérieures à la lutte contre les moustiques vecteurs du Chikungunya.

Concernant la ravine St-Gilles, l'échantillonnage de mai 2006 confirme une situation plutôt bonne selon les critères retenus à la Réunion. Cependant, il y a une différence notable de composition faunistique, les dernières crues entraînées par la tempête tropicale Diwa en mars peuvent être à l'origine de cette restructuration. Concernant la Grande Rivière St-Jean, la situation est également plutôt correcte. Néanmoins, bien que diversifié, le peuplement est largement dominé par une famille de mollusques.

Ces deux derniers résultats placent les deux sites d'étude dans la tranche supérieure de la grille de qualité définie à la Réunion à partir de la structure des peuplements ; l'analyse de ces résultats ne révèle donc pas « d'anomalie » ou de « dérive » particulière par rapport à une situation antérieure.

Néanmoins, si ces études ne mettent pas en évidence de dégradation de milieux aquatiques d'eau douce à court terme, il est important de veiller à la non dégradation des milieux à plus long terme au travers d'une part des réseaux existants de suivi de la qualité des milieux (Suivi Piscicole et Suivi HydrobioQualité) et d'autre part, en cas de poursuite des pulvérisations massives, de la poursuite de la mobilisation concernant la surveillance des mortalités.

### 3 EFFETS SUR LES OISEAUX ET LES MAMMIFERES

#### 3.1 TOXICITÉ DU BTI

##### 3.1.1 Toxicité sur les oiseaux

Des tests de toxicité ont été conduits sur les deux espèces d'oiseaux recommandées par la réglementation sur les produits phytosanitaires (Directive 91/414/CEE), le canard colvert et le colin de Virginie. Les résultats sont présentés dans le tableau III.2. La toxicité est comparable pour les deux espèces et le *Bti* n'est pas considéré comme toxique pour les oiseaux.

Tableau III.2: Toxicité aviaire du *Bacillus thuringiensis israelensis*

Espèce	Conditions	Critère de toxicité	Résultat	Référence
<b>Toxicité court-terme alimentaire</b>				
Canard colvert	<i>Bti</i> , VECTOBAC technique EPA 154-16, 5 j	LC <sub>50</sub>	> 3,1 g/kg/j (6,2.10 <sup>11</sup> ufc/kg/j)	EPA (1998) WHO (1999)
Canard colvert	<i>Bti</i> , EPA 154-16, 5 j	LC <sub>50</sub>	> 5 mL/kg/j	EPA (1998)
Colin de Virginie	<i>Bti</i> , VECTOBAC technique EPA 154-16, 5 j	LC <sub>50</sub>	> 3,1 g/kg/j (3,4.10 <sup>11</sup> ufc/kg/j)	EPA (1998) WHO (1999)
Colin de Virginie	<i>Bti</i> , EPA 154-16, 5 j	LC <sub>50</sub>	> 5 mL/kg/j	EPA (1998)

##### 3.1.2 Toxicité sur les mammifères

Les données pertinentes pour l'évaluation du risque pour les mammifères sont résumées dans le tableau III.3.

Tableau III.3 : Toxicité du *Bti* sur le rat

Espèce	Conditions	Critère de toxicité	Résultat	Référence
Rat	Oral, préparation TEKNAR, US6EPA 152A-10 (885.3050)	DL <sub>50</sub>	> 4,7.10 <sup>11</sup> spores/kg	WHO (1999)
Rat	Oral, 90 j, rat	NOEL	> 4 g/kg pc/j	WHO (1999)

---

## 3.2 EVALUATION DU RISQUE POUR LES OISEAUX ET LES MAMMIFERES

---

Comme le *Bti* est un insecticide larvicide, le produit est directement appliqué sur l'eau sous forme de granulés pour la préparation VECTOBAC® G ou sous forme de pulvérisation pour la préparation VECTOBAC® WG.

Suite à l'application sous forme de granulés de VECTOBAC® G, l'impact direct sur les animaux terrestres est peu probable. Le risque lié à l'exposition des oiseaux et des mammifères qui se nourrissent de plantes ou insectes contaminés est faible. Deux autres voies d'exposition sont probables :

- les animaux peuvent être exposés au *Bti* après avoir absorbé de l'eau qui a été traitée,
- les animaux piscivores peuvent être exposés au *Bti* en se nourrissant de poissons contaminés.

Suite à l'application sous forme liquide de la préparation VECTOBAC® WG sur l'eau, les zones terrestres adjacentes au point d'eau traité peuvent être contaminées par la dérive de pulvérisation. Les oiseaux et autres mammifères peuvent donc être exposés par la consommation de certaines parties des végétaux traités (feuilles, graines...) ou d'invertébrés qui ont été exposés au produit par la dérive de pulvérisation. Trois voies d'exposition sont alors probables :

- les animaux peuvent être exposés au *Bti* après avoir absorbé de l'eau qui a été traitée,
- les animaux piscivores peuvent être exposés au *Bti* en se nourrissant de poissons contaminés,
- les animaux insectivores et herbivores peuvent être exposés au *Bti* en se nourrissant d'insectes ou de végétation contaminées,
- les animaux peuvent être exposés au *Bti* en se nourrissant de vers de terre contaminés.

### 3.2.1 Risque pour les animaux se nourrissant de végétation et d'insectes dans les zones adjacentes

Au moment de l'application directe du produit sur l'eau, les zones terrestres adjacentes au point d'eau traité peuvent être contaminées par la dérive de pulvérisation. Les oiseaux et autres mammifères peuvent donc être exposés par la consommation de certaines parties des végétaux traités (feuilles, graines...) ou d'invertébrés qui ont été exposés au produit par la dérive de pulvérisation.

Ce scénario est issu du document « OECD Task Force on Biocides 2nd Draft Emission Scenario Document for Insecticides, acaricides and products to control other arthropods (PT 18) for household and professional uses », du 28 juillet 2006, qui préconise d'évaluer le risque pour les oiseaux et mammifères se nourrissant à proximité de la zone traitée selon l'approche du document SANCO/4145/2000 (EC, 2002), en utilisant des espèces représentatives différentes, vivant dans les zones proches des habitations, appelées « pelouses/jardin ». Ces espèces sont présentées dans le tableau III.4.

Cette approche est adaptée à l'utilisation du *Bti* à la Réunion où il est destiné à être appliqué en zones urbaines et périurbaines. Les espèces recommandées sont comparables à des espèces présentes sur l'île de la Réunion en termes de régime alimentaire, taille et poids.

Les espèces préconisées par le document SANCO/4145/2000 (EC, 2002) sont aussi prises en compte afin d'élargir la portée de l'évaluation du risque. Toutes les espèces

recommandées par ce document et susceptibles d'être exposées lors de l'application de préparations à base de *Bti* dans le cadre de la lutte antivectorielle sont prises en compte.

Tableau III.4 : Espèces représentatives pour les biocides des zones « pelouse/jardin »

Espèce indicatrice	Alimentation	Poids corporel
Mammifère insectivore	Gros insectes	7,6 g
Mammifère insectivore	Gros insectes / vers et limaces	1100 g
Mammifère insectivore	Gros insectes / vers de terre et limaces	10100 g
Mammifère herbivore	Plantes feuillues	1500 g
Oiseau insectivore	Petits insectes	22 g
Oiseau insectivore	Vers de terre / insectes	113 g
Oiseau omnivore	80 % matières animales (insectes, petits mammifères)	225 g

Tableau III.5 : Espèces représentatives selon SANCO/4145/2000 (EC, 2002)

Espèce indicatrice	Alimentation	Poids corporel
Grand oiseau herbivore	Herbe	3000 g
Oiseau herbivore moyen	Plantes feuillues	300 g
Oiseau insectivore	Petits insectes	10 g
Petit mammifère herbivore	Herbe	25 g
Mammifère herbivore moyen	Plantes feuillues	3000 g
Mammifère insectivore	Gros insectes	10 g

L'estimation du risque est réalisée selon les recommandations de l'EPPO (1994) et les recommandations européennes décrites dans le document SANCO/4145/2000 (EC, 2002).

Les valeurs standards de résidus sont calculées pour un taux d'application de 1 kg s.a./ha (RUD, Résidu par Unité de Dose) et interviennent dans le calcul de la concentration de résidus dans la nourriture des oiseaux et autres mammifères terrestres.

Ces concentrations sont recalculées selon :

$$\text{Concentration en résidus (mg s.a./kg nourriture)} = \text{dose d'application (kg s.a./ha)} \times \text{RUD}$$

Les valeurs d'ETE (Exposition Théorique Estimée) sont calculées selon :

$$\text{ETE (mg s.a./kg p.c.)} = (\text{FIR/pc}) \times C \times \text{AV} \times \text{PT}_i \times \text{PD}_i$$

où :

- FIR est le taux de nourriture ingérée par l'espèce indicatrice (g poids frais par jour) et pc le poids corporel (g)
- AV est le potentiel répulsif (1 = pas de répulsion, 0 = répulsion totale)
- $\text{PT}_i$  est la fraction  $i$  de nourriture obtenue dans la zone traitée

-  $PD_i$  est la fraction de nourriture de type  $i$  dans l'alimentation de l'espèce considérée

Pour une évaluation initiale et dans le cadre d'un scénario du pire cas, nous supposons que :

- la nourriture contaminée n'est pas répulsive ( $AV = 1$ )
- les animaux se nourrissent exclusivement dans la zone traitée ( $PT_i = 1$ )
- les animaux se nourrissent exclusivement de l'aliment contaminé ( $PD_i = 1$ )

Le facteur d'applications multiples est de 1,7 pour une exposition aiguë et de 2,1 pour une exposition chronique puisque la préparation est appliquée 3 fois dans l'année avec un intervalle minimal de 6 jours entre 2 applications (données de SANCO/4145/2000 (EC, 2002)).

Pour la préparation VECTOBACK® WG appliquée sous forme liquide, la dérive maximum pouvant atteindre les zones adjacentes est estimée par défaut à 33,2%. Considérant l'usage larvicide du *Bti*, le produit est appliqué par pulvérisation directe sur plan d'eau, ce qui peut entraîner la contamination des sols par dérive de la substance active. Dans des cas extrêmes (applications sur véhicules motorisés), le mode d'application est supposé générer une dérive maximale. Comme la dérive sur de tels dispositifs n'est pas connue, nous avons utilisé des valeurs mesurées maximales pour des appareils de pulvérisation et qui correspondent à celles d'une application aérienne, soit 33,2% de la dose appliquée pour une dérive à 3 m de la zone traitée (données extraites à partir d'AgDrift citée dans FOCUS, 2001). La quantité maximale susceptible de contaminer les zones terrestres adjacentes est de 139,4 g s.a./ha.

Pour les espèces recommandées par l'OCDE, les équations de calcul d'ETE préconisées dans le document « OECD Task Force on Biocides 2nd Draft Emission Scenario Document for Insecticides, acaricides and products to control other arthropods (PT 18) for household and professional uses », du 28 juillet 2006 sont utilisées (OCDE, 2006).

<b>Oiseaux exposition aiguë</b>	
<b>Oiseau insectivore</b>	$ETE = (FIR/pc) \times RUD \times APPL_{ground} \times 1.75$
<b>Oiseau herbivore</b>	$ETE = (FIR/pc) \times RUD \times APPL_{ground} \times 1.75 \times MAF$
<b>Oiseau omnivore</b>	$ETE = (FIR/pc) \times RUD \times APPL_{ground} \times 1.75$
<b>Oiseaux exposition à court terme</b>	
<b>Oiseau insectivore</b>	$ETE = (FIR/pc) \times RUD \times APPL_{ground} \times 3.5$
<b>Oiseau herbivore</b>	$ETE = (FIR/pc) \times RUD \times APPL_{ground} \times 3.5 \times MAF$
<b>Oiseau omnivore</b>	$ETE = (FIR/pc) \times RUD \times APPL_{ground} \times 3.5$

$APPL_{ground}$  : dose de substance active appliquée, en kg/ha.

<b>Mammifères exposition aiguë</b>	
<b>Mammifère insectivore</b>	$ETE = (FIR/pc) \times RUD \times APPL_{ground} \times 1.75$
<b>Mammifère herbivore</b>	$ETE = (FIR/pc) \times RUD \times APPL_{ground} \times 1.75 \times MAF$
<b>Mammifères exposition à court terme</b>	
<b>Mammifère insectivore</b>	$ETE = (FIR/pc) \times RUD \times APPL_{ground} \times 3.5$
<b>Mammifère herbivore</b>	$ETE = (FIR/pc) \times RUD \times APPL_{ground} \times 3.5 \times MAF$

Les RTE (Ratios Toxicité-Exposition) sont calculés suite à une exposition aiguë, court terme et long terme.

## Exposition aiguë

### Risque pour les oiseaux

Aucune donnée de toxicité aiguë du *Bti* sur les oiseaux n'est disponible. Cependant, comme nous avons une donnée de toxicité alimentaire à court terme et que cette donnée correspond à une étude où l'exposition des oiseaux est plus importante (les oiseaux sont traités durant 5 jours), nous avons utilisé cette donnée de toxicité à court terme pour évaluer le risque aigu.

Tableau III.6 : RTE<sub>aigu</sub> pour les oiseaux

RTE <sub>aigu</sub> pour les oiseaux							
Toxicité aiguë : DL <sub>50</sub> > 3100 mg s.a./kg pc/j							
Espèce représentative	Dose (g/ha)	FIR/pc	RUD (90 %)	MAF	ETE <sub>A</sub>	RTE <sub>A</sub>	Valeur seuil (91/414/CEE)
<b>Espèces SANCO/4145/2000 (EC, 2002)</b>							
Grand oiseau herbivore - 3000 g	139,4	0,44	142	1,7	8,71	> 356	10
Oiseau herbivore moyen - 300 g		0,76	87	1,7	15,7	> 198	
Oiseau insectivore - 10 g		1,04	52	n/a	7,54	> 411	
<b>Espèces ESD PT 18 sur les biocides</b>							
Oiseau insectivore - 22 g	139,4	0,82	52	n/a	2,54	> 1222	10
Oiseau insectivore - 113 g		0,44	14	n/a	1,50	> 2063	
Oiseau omnivore - 225 g		0,44	142	n/a	15,2	> 203	

Les valeurs de RTE<sub>aigu</sub> sont très largement supérieures à la valeur seuil de 10 définie par la directive européenne 91/414/CEE, et de ce fait l'application d'une préparation contenant du *Bti* selon les usages recommandés ne présente pas de risque aigu inacceptable pour les oiseaux.

De plus, des études d'observation sur le terrain ont été conduites pour évaluer l'impact des traitements au *Bti* sur les populations d'oiseaux.

Glare et O'Callaghan (1998) ont établi un rapport pour le ministère de la santé sur l'impact sur l'environnement et la santé lié à l'utilisation du *Bti*. En 2005, Stark a fait une mise à jour de ce rapport :

Des études long terme sur le terrain avec l'application de *Bti* pour le contrôle des moustiques dans des marécages au Minnesota, Etats-Unis (discutés ci-dessus) ont montré que le *Bti* n'a aucun effet sur les populations de grives mauvis et de merles noirs rouges (Hershey *et al.* 1998, Niemi *et al.* 1999 dans Stark, 2005). Une étude plus détaillée sur les effets du *Bti* sur une communauté d'oiseaux a été conduite par Hanowski *et al.* (1997) (dans Stark, 2005). Le

*Bti*, sous forme de granules de VECTOBAC® G n'a eu aucun effet sur la communauté d'oiseaux ou sur 19 différentes espèces différentes d'oiseaux.

Une étude des populations d'oiseaux dans la zone naturelle protégée « Kuehkopf-Knoblochsau » (2 369 ha) sur le Rhin dans le land de la Hesse, (Allemagne), a été conduite de 1994 à 1996 (Kreuziger, 1998 dans Stark, 2005) après une reconversion des champs cultivés en prés. L'abondance de plus d'un tiers des espèces a augmenté tandis que celle de moins de 10 % des espèces a diminué. La plupart des espèces ont montré des changements de dispersion dans le secteur étudié. Cependant, les espèces d'oiseaux se reproduisant dans les roseaux et le long du bord de l'eau ont diminué ce qui peut être dû à la réduction de nourriture disponible, elle-même provoquée par l'utilisation du *Bti* pour le contrôle des moustiques sur le Rhin.

### Risque pour les mammifères

Le résultat de l'étude de toxicité orale aiguë pour les mammifères est exprimé en spores/kg. Le nombre de spores lors de la production en masse du *Bti* est variable et n'a aucun lien direct clairement établi avec le nombre de cristaux engendrés, responsables de l'effet insecticide. Par conséquent, cette donnée ne sera pas utilisée pour le calcul des RTE en exposition aiguë. L'étude de toxicité orale pendant 3 mois sur rat a abouti à une DSEO supérieure à 4 g/kg pc/j. L'exposition étant largement plus importante que durant l'étude de toxicité aiguë, nous pouvons considérer par défaut que la DL<sub>50</sub> issue d'une étude de toxicité orale aiguë serait supérieure à 4 g/kg pc/j.

Tableau III.7 : RTE<sub>aigu</sub> pour les mammifères

<b>RTE<sub>aigu</sub> pour les mammifères</b>							
Toxicité aiguë : DL <sub>50</sub> > 4000 mg/kg pc/j							
Espèce représentative	Dose (g/ha)	FIR/pc	RUD (90%)	MAF	ETE <sub>A</sub>	RTE <sub>A</sub>	Valeur seuil (91/414 /CEE)
<b>Espèces SANCO/4145/2000 (EC, 2002)</b>							
Petit mammifère herbivore	139,4	1,39	142	1,7	46,8	> 86	10
Mammifère herbivore moyen		0,28	87	1,7	5,77	> 693	
Mammifère insectivore		0,63	14	n/a	1,23	> 3253	
<b>Espèces ESD PT 18 sur les biocides</b>							
Mammifère insectivore-7,6 g	139,4	0,68	14	n/a	2,3	> 1722	10
Mammifère insectivore-1100 g		0,18	14	n/a	0,61	> 6507	
Mammifère insectivore – 10100 g		0,18	14	n/a	0,61	> 6507	
Mammifère herbivore – 1500 g		0,32	87	1,7	11,5	> 346	

Les valeurs de RTE<sub>aigu</sub> sont largement supérieures à la valeur seuil de 10 définie par la directive européenne 91/414/CEE, et de ce fait l'application d'une préparation contenant du

*Bti* selon les usages recommandés ne présente pas de risque aigu inacceptable pour les mammifères.

## Exposition à court terme

### Risque pour les oiseaux

Après application de la préparation, les oiseaux peuvent consommer de la nourriture contaminée pendant plus d'un jour, et par conséquent l'absence de risque indésirable à court et long terme doit être vérifiée. Les résultats des études d'exposition alimentaire (5 jours) donnent une indication de la toxicité à court terme. Dans le cadre d'un scénario du pire-cas, on considère que les oiseaux ne consomment qu'un seul type de nourriture, contaminée, sans aucune répulsion.

Les résultats obtenus sont donnés dans le tableau III.8.

Tableau III.8 : RTE<sub>court terme</sub> pour les oiseaux

<b>RTE<sub>CT</sub> pour les oiseaux</b>							
Toxicité alimentaire à 5 jours : CL <sub>50</sub> > 3100 mg/kg pc/j							
Espèce représentative	Dose (g/ha)	FIR/pc	RUD (90%)	MAF	ETE <sub>CT</sub>	RTE <sub>CT</sub>	Valeur seuil (91/414/CEE)
<b>Espèces SANCO/4145/2000 (EC, 2002)</b>							
Grand oiseau herbivore	139,4	0,44	76	2,10	9,8	> 317	10
Oiseau herbivore moyen		0,76	40	2,10	8,88	> 349	
Oiseau insectivore		1,04	29	n/a	4,20	> 737	
<b>Espèces ESD PT 18 sur les biocides</b>							
Oiseau insectivore: 22 g	139,4	0,2	29	n/a	2,83	> 1095	10
Oiseau insectivore: 113 g		0,44	5,1	n/a	1,09	> 2831	
Oiseau omnivore : 225 g		0,44	5,1	n/a	1,09	> 2831	

Les valeurs de RTE<sub>court terme</sub> sont largement supérieures à la valeur seuil de 10 définie par la directive européenne 91/414/CEE, et de ce fait l'application de préparation contenant du *Bti* selon les usages recommandés ne présente pas de risque inacceptable sur le court terme pour les oiseaux.

## Exposition à long terme

### Risque pour les oiseaux

Pour l'évaluation à long terme les teneurs en résidus pondérées (moyenne pondérée sur le temps, mpt) dans la végétation sont utilisées car elles reflètent mieux l'exposition sur le long terme. La diminution des concentrations de résidus dans la végétation est considérée : les valeurs par défaut sont une période de 3 semaines et une DT<sub>50</sub> de 10 jours dans la

---

végétation. Ainsi le facteur  $f_{mpt} = \frac{1 - e^{-kt}}{kt}$  est égal à 0,53, où k est la constante de vitesse et t la période considérée pour la pondération.

L'évolution de la contamination dans les insectes en fonction du temps est peu connue, en raison de nombreux facteurs qui entrent en jeu tels que le remplacement des individus dû à la migration ou la reproduction. Ainsi aucun facteur n'est pris en compte dans le cas des animaux insectivores.

Pour les espèces recommandées par l'OCDE, aucune équation de calcul d'ETE spécifique à l'exposition à long terme n'est disponible. C'est pourquoi les valeurs d'exposition à court terme sont utilisées. Ces valeurs n'intègrent pas le facteur de pondération dans le temps ( $f_{mpt}$ ) comme c'est le cas des valeurs d'ETE long terme calculées selon le document SANCO/4145/2000 (EC, 2002). Elles représentent donc un cas défavorable.

En l'absence de donnée de toxicité à long terme du *Bti* sur les oiseaux, les RTE ne peuvent pas être déterminés. Le risque pour les oiseaux qui se nourrissent de végétation et d'insectes contaminés après application du *Bti* ne peut être écarté par le calcul des RTE.

Cependant, les études de toxicité à court terme sur les oiseaux montrent que les oiseaux ne sont pas sensibles au *Bti*. Cela peut s'expliquer par le pH acide des estomacs des oiseaux qui ne présentent pas les conditions favorables pour induire l'effet toxique des  $\delta$ -endotoxines.

Dans ce cas, on peut s'attendre à ce que même une exposition à long terme n'induisse pas d'effet sur les oiseaux.

Risque pour les mammifèresTableau III.9 : RTE<sub>long terme</sub> pour les mammifères

<b>RTE<sub>LT</sub> pour les mammifères</b>								
Toxicité de reproduction : DSEO > 4000 mg s.a./kg pc								
<b>Espèces SANCO/4145/2000 (EC, 2002)</b>								
Espèce représentative	Dose (g/ha)	FIR/pc	RUD (90 %)	f <sub>mpt</sub>	MAF	ETE <sub>LT</sub>	RTE <sub>LT</sub>	Valeur seuil (91/414 /CEE)
Petit mammifère herbivore	139,4	1,39	76	0,53	2,1	16,2	> 246	5
Mammifère herbivore moyen		0,28	40	0,53	2,1	1,72	> 2321	
Mammifère insectivore		0,63	5,1	n/a	n/a	0,45	> 8931	
<b>Espèces ESD PT 18 sur les biocides</b>								
Mammifère insectivore – 7,6 g	139,4	0,68	5,1	n/a	n/a	1,69	> 2364	5
Mammifère insectivore - 1100 g		0,18	5,1	n/a	n/a	0,45	> 8931	
Mammifère insectivore : 10100 g		0,18	5,1	n/a	n/a	0,45	> 8931	
Mammifère herbivore : 1500 g		0,32	40	1	2,0	12,5	> 320	

Les valeurs de RTE<sub>long terme</sub> sont supérieures à la valeur seuil de 5 définie par la directive européenne 91/414/CEE, et de ce fait l'application de préparation contenant du *Bti* selon les usages recommandés ne présente pas de risque inacceptable sur le long terme pour les mammifères.

### 3.2.2 Risque pour les animaux se nourrissant de vers de terre dans les zones adjacentes

Le risque encouru par les oiseaux ou mammifères se nourrissant de vers de terre dans les zones adjacentes aux zones traitées n'est pas probable le *Bti* n'est pas bioaccumulable.

### 3.2.3 Risque pour les organismes consommant l'eau traitée

Les espèces qui fréquentent les zones humides sont susceptibles d'ingérer des résidus de substance dus au traitement de l'eau. Le risque encouru est évalué selon les recommandations du document guide SANCO/4145/2000 (EC, 2002) pour les produits phytosanitaires.

La concentration d'exposition est dans ce cas égale à la CPE<sub>eau de surface</sub>, déterminée dans la section environnementale de cette évaluation (Partie II - Propriétés physico-chimiques et

Evaluation du risque pour l'environnement). En l'absence de données de dégradation dans l'environnement, les CPE sont calculées avec les données les plus défavorables.

$CPE_{\text{eau de surface}} = 140,0 \mu\text{g/L}$  après 1 application

$CPE_{\text{eau de surface}} = 418,3 \mu\text{g/L}$  après 3 applications

Comme le produit est directement appliqué sur l'eau, la concentration d'exposition est calculée à partir de la dose appliquée, sans dilution ni dérive.

L'ingestion quotidienne d'eau est calculée selon les formules suivantes (Calder et Braun 1983 citée dans SANCO/4145/2000 (EC, 2002)):

Pour les oiseaux :  $\text{Dose totale d'eau ingérée (L/j)} = 0,059W^{0,67}$

Pour les mammifères :  $\text{Dose totale d'eau ingérée (L/j)} = 0,099W^{0,90}$

Où W est le poids du corps en kg.

Par conséquent, la dose quotidienne de substance ingérée est calculée selon la formule suivante :  $(CPE_{\text{eau de surface}} * \text{Dose totale d'eau ingérée}) / W$ .

Les rapports Toxicité-Exposition (RTE) sont calculés pour des oiseaux et des mammifères pour lesquels les données de toxicité à court ou long terme sont disponibles.

Tableau III.10 : RTE après consommation de l'eau

Espèce Exposition	Poids (kg)	Dose totale ingestion d'eau (L/j)	$CPE_{\text{esu}}$ (mg/L)	Dose quotidienne (mg sa/kg pc/d)	$CL_{50}/\text{DESO}$ (mg sa/kg pc/d)	RTE	Valeur seuil
Oiseau, Court terme	1,00	0,059	0,418	$2,5 \cdot 10^{-2}$	> 3100	$> 1,3 \cdot 10^5$	> 5
Oiseau Court terme	0,01	0,003		$1,1 \cdot 10^{-3}$	> 3100	$> 2,8 \cdot 10^4$	
Mammifère Long terme	0,35	0,038		$4,6 \cdot 10^{-2}$	> 4000	$> 8,7 \cdot 10^4$	
Mammifère Long terme	0,01	0,002		$6,6 \cdot 10^{-2}$	> 4000	$> 6,1 \cdot 10^4$	

Les RTE sont très élevés et largement supérieurs à la valeur seuil (5). Par conséquent, le risque pour les oiseaux et les mammifères terrestres lié à l'absorption d'eau contaminée suite à l'application de *Bti* est considéré comme acceptable.

Les marges de sécurité étant très importantes, le risque peut être considéré comme exclu quelle que soit la durée d'exposition.

### 3.2.4 Risque pour les animaux se nourrissant de poissons

Le risque encouru par les oiseaux ou mammifères se nourrissant de poissons dans les zones traitées n'est pas probable, car d'une part le *Bti* n'est pas bioaccumulable et d'autre part, d'après la littérature scientifique, le *Bti* n'est que légèrement toxique pour les poissons.

### 3.2.5 Etudes de terrain

#### Impact sur les oiseaux

Dans le cadre de l'étude des impacts sur l'environnement de l'utilisation de biocides dans la lutte antivectorielle (LAV), l'impact sur les oiseaux a été étudié par Salamolard et Monta (2006).

Les molécules utilisées ont été, le fénitrothion (adulticide) et le téméphos (larvicide), jusqu'au 14 février 2006. Puis ces dernières molécules ont été remplacées par la deltaméthrine et esbiothrine (adulticides) et le *Bacillus thurengiensis israelensis*, *Bti* (larvicide).

Dans le cadre de l'étude des effets sur les vertébrés, deux protocoles ont été mis en place dans l'urgence au sein de la Société d'Etudes Ornithologiques de la Réunion (SEOR).

#### **A - Prospection et recherche de cas de mortalité dans les jardins**

##### **Méthodologie**

Il s'agit de demander aux habitants (60) de signaler les cas de mortalité anormale observés à la suite des passages de lutte antivectorielle, ainsi que de rechercher activement dans 10 jardins, avant et après démoustication, tout cadavre de vertébrés. Ces enquêtes ont été réalisées dans un quartier de Saint-André, Z645, entre le 25/03/06 et 07/04/06.

Tableau III.11 : Déroulement des opérations

Date	Démoustication	Enquêtes
25/03/06		1 <sup>er</sup> passage SEOR
26/03/06	1 <sup>er</sup> passage VLTT	
26/03/06	1 <sup>er</sup> passage FAZSOI	
30/03/06	2 <sup>ème</sup> passage VLTT	
02/04/06	2 <sup>ème</sup> passage FAZSOI	
07/04/06		2 <sup>ème</sup> passage SEOR

SEOR : Société d'Etudes Ornithologiques de la Réunion

VLTT : Véhicule Léger Tout Terrain

FAZSOI : Forces armées dans la zone Sud de l'Océan Indien

##### **Résultat**

Aucun appel pour un signalement n'a été enregistré, de même qu'aucun cadavre n'a été trouvé après les 4 passages de lutte antivectorielle. A la lumière des remarques faites par les habitants, il est clair que ceux-ci étaient très vigilants sur ce sujet et informés des dates de passage réelles des équipes de lutte antivectorielle.

## B - Effets de l'utilisation des insecticides sur un oiseau insectivore

### Méthodologie

La Salangane, *Aerodroma (Collocalia) francica*, petite hirondelle des Mascareignes, de la famille des Martinets a été choisie car cette espèce fait l'objet de suivis mensuels par la SEOR depuis plusieurs années (1998) ; les années antérieures de suivis servant de valeurs de référence.

L'espèce est insectivore et les deux colonies étudiées, de plusieurs milliers de couples, sont proches du chef-lieu de Saint-Denis (1 et 12 km), ayant fait l'objet de traitements antivectoriels.

La méthode d'étude utilisée est la « capture-marquage-recapture ». Les oiseaux sont capturés avec des filets à leur retour sur les sites de reproduction et de rassemblements nocturnes, puis bagués et relâchés.

Les données acquises en février, mars et avril 2006, sont comparées à celles des années antérieures (1998-2005) pour les mêmes mois.

Les variables mesurées et comparées sont :

- les cas de mortalité sur ces sites ;
- le nombre d'individus des sites de reproduction et des reposoirs nocturnes ;
- les mesures biométriques : longueur de l'aile pliée, masse corporelle ;
- la condition corporelle des adultes : indice d'adiposité (niveau de graisse dans les fosses claviculaires), calcul de l'écart à la moyenne du poids ;
- l'état d'avancement de la mue de l'ensemble des rémiges primaires (plumes des ailes) et des 3 premières rémiges primaires ;
- le succès de la reproduction : mesuré par la proportion d'individus juvéniles par rapport aux adultes ;
- la biométrie et la condition corporelle des juvéniles : mêmes mesures que pour les adultes.

### Résultat

Les 10 visites réalisées entre février et avril 2006 dans ces deux colonies n'ont pas montré de présence de cadavres d'oiseaux sous les sites où se rassemblent chaque soir plusieurs milliers de salanganes.

La taille des ces deux colonies mesurée en 2006 reste proche des valeurs des années précédentes : 1200 à 2400 individus pour Saint-Denis et 5500 à 6000 pour la Possession.

Chez les adultes, il n'y a pas de différence entre 2006 et les années antérieures du paramètre morphométrique de longueur de l'aile. Quelques différences, non significatives, apparaissent au niveau de la condition corporelle des oiseaux, mesurée sous forme d'un indice d'adiposité (niveau de graisse accumulée dans les fosses claviculaires), différences qui se répercutent, dans une moindre mesure, sur la masse corporelle, bien que cette différence n'apparaisse plus au niveau des écarts à la moyenne de la masse corporelle.

L'écart très net qui est mesuré en 2006 comparativement aux années précédentes est le retard dans l'avancement de la mue des salanganes adultes. Quels que soient les mois ou les sites, cette différence est observée : en 2006, les adultes remplacent leurs plumes du vol (appelées rémiges primaires) plus tardivement en 2006 que les années précédentes.

Le succès de la reproduction mesuré par la proportion de juvéniles dans l'ensemble de la population, atteint 25 à 30 % ce qui est identique aux pourcentages observés précédemment. Chez les juvéniles, la longueur de l'aile pliée et l'adiposité ne diffèrent pas significativement entre 2006 et les années précédentes. Par contre la masse corporelle des juvéniles est significativement plus faible en 2006 par rapport aux années précédentes.

Les deux seuls paramètres présentant de réelles différences en 2006 par rapport aux années précédentes sont la phénologie de la mue des adultes et la masse corporelle des juvéniles.

La mue correspond à une période très critique chez les oiseaux, période d'accroissement des besoins énergétiques et de diminution des capacités de vol pour la recherche alimentaire et pour échapper aux prédateurs. Les juvéniles de salanganes sont moins aptes que les adultes à se déplacer sur de plus grandes distances pour éviter des diminutions locales de l'accès aux ressources.

Le retard de remplacement des plumes des adultes et la plus faible masse corporelle des juvéniles sont, sans doute, à relier avec une diminution de l'accessibilité aux ressources alimentaires (plancton aérien), devenues plus rares ou moins accessibles.

Les traitements chimiques utilisés dans les campagnes de lutte antivectorielle peuvent avoir conduit à une diminution des quantités d'arthropodes disponibles. Les phénomènes climatiques ont également de tels effets, longues périodes de sécheresse ou de pluies importantes. Ainsi, les périodes cycloniques, telles que Diwa en 2006, affectent à la fois les abondances d'arthropodes en suspension dans l'air ainsi que leur accessibilité pour les salanganes par une diminution des périodes favorables à la recherche alimentaire.

Il est possible de conclure que les salanganes ont connu, en 2006, des difficultés dans l'acquisition des ressources alimentaires (arthropodes surtout), sans que cela entraîne ni une mortalité des oiseaux, ni une diminution du succès de la reproduction décelables. Cependant, des effets sont notables, au niveau de la masse corporelle des juvéniles et de l'état d'avancement de la mue. Les deux principales causes à cela peuvent être liées aux conditions météorologiques qui affectent à la fois les abondances d'arthropodes et leur accessibilité, et/ou les campagnes de démoustication qui pourraient entraîner également une diminution des arthropodes en suspension dans l'air.

## Conclusion

Les résultats de ces études ne mettent pas en évidence d'impact majeur des traitements insecticides ni sur la faune des jardins en mars 2006, ni sur la reproduction des salanganes. Ces résultats doivent être modulés par 1/ la mise en place en urgence de ces protocoles et la nécessité de s'appuyer sur des protocoles déjà existants, 2/ les moeurs « pélagiques » des salanganes, qui sont capables de s'affranchir des variations locales de disponibilités des proies par un déplacement de leurs aires de prospection pour la recherche alimentaires et 3/ par le manque de recul dans les analyses.

### Impact sur les chiroptères

Compte tenu de leur régime alimentaire insectivore, les chauves-souris *Mormopterus acetabulosus* et *Taphozous mauritanus* sont susceptibles d'être indirectement impactées par les traitements insecticides dans le cadre de la LAV soit par disparition de la ressource alimentaire soit par ingestion de nourriture contaminée.

Pour mesurer d'éventuels impacts sur ces organismes, une colonie de *Mormopterus acetabulosus* située à la grotte de la Ravine Trois Bassins à La Saline et 3 groupes de *Taphozous mauritanus* (Mairie des roches noires à St-Gilles-les-Bains, Pont de la Ravine Trois Bassins à La Saline et pont de la rivière Ste-Suzanne à Ste-Suzanne) ont fait l'objet par l'ONF (Office Nationale des Forêts), en collaboration avec la BNOI (Brigade de la Nature de l'Océan Indien), de deux visites entre le 8 avril et le 24 mai 2006 (Devaux, 2006). Trois autres sites connus pour les chauves-souris ont également été prospectés.

Les dortoirs à *Mormopterus acetabulosus* qui ont été visités n'ont pas connu de baisse d'effectif significative. Pour les *Taphozous mauritanus*, il n'existe pas de dortoirs à grand effectif, mais les sites connus n'ont jamais été désertés et la reproduction a été vérifiée à plusieurs reprises.

### 3.2.6 Conclusion générale pour les oiseaux et mammifères

Le risque a été évalué pour les oiseaux qui se nourrissent sur les zones adjacentes aux zones traitées de plantes ou d'insectes contaminés par la dérive de pulvérisation au moment de l'application de la préparation VECTOBAC® WG. Le risque est considéré comme acceptable après exposition aiguë, à court et long terme.

Le risque encouru par les oiseaux ou mammifères se nourrissant de vers de terre ou de poissons contaminés n'est pas probable car le *Bti* ne peut se bioaccumuler.

Le risque pour les oiseaux et les mammifères terrestres dû à l'absorption d'eau contaminée suite à l'application de *Bti* est considéré comme acceptable.

La raison de la non toxicité du *Bti* sur les oiseaux et mammifères est dû au fait que l'activation des toxines du *Bti* n'est possible qu'en présence des conditions d'alcalinité que l'on retrouve dans l'appareil digestif de certains insectes et non chez les mammifères ou oiseaux.

Une étude de suivi des oiseaux a été conduite à la Réunion afin d'évaluer l'impact sur l'environnement de l'utilisation de biocides dans la lutte antivectorielle (LAV). Les résultats de ces études ne mettent pas en évidence d'impact majeur des traitements insecticides ni sur la faune des jardins en mars 2006, ni sur la reproduction des salanganes, espèce typique de l'île, ou sur la présence de chiroptères.

Les analyses sur les populations de salanganes soulignent le fort intérêt à mettre en place des protocoles de suivis réguliers et à long terme des populations d'espèces indigènes. Des mesures plus précises (sur l'abondance des espèces) et sur le long terme, mériteraient d'être mises en place pour étudier les effets des luttes antivectorielles sur l'ensemble des peuplements de vertébrés des jardins.

## 4 EFFETS DU BTI SUR LA FAUNE NON CIBLE

« Les études consacrées aux préparations de *Bti* exemptes de contaminants toxiques ont montré qu'elles étaient sans danger pour la plupart des arthropodes aquatiques non visés. Certains moucheron (chironomides appartenant à l'ordre des diptères) très proches des moustiques se sont révélés sensibles à de très fortes doses de *Bti* mais ne sont nullement affectés aux doses utilisées pour la destruction des larves de moustique. Des études sur le terrain ont mis en évidence des cas de réduction ou au contraire d'augmentation de certaines populations d'arthropodes non visés (WHO, 1999). »

### 4.1 EFFETS SUR LES ABEILLES

#### 4.1.1 Etude de laboratoire

Le *Bti* est considéré comme non toxique sur les abeilles (Krieg *et al.*, 1980, dans Glare and O'Callaghan, 1998). Une donnée de toxicité issue d'une étude conduite en laboratoire est rapportée par l'EPA (1998).

Tableau III.12: Toxicité du *Bti* sur les abeilles

<b>Substance testée</b>	<i>Bti</i>
<b>Organisme</b>	Abeille
<b>Conditions</b>	EPA 154-24
<b>5 jour CL<sub>50</sub></b>	$> 7.10^7$ ufc/g nourriture
<b>Référence</b>	EPA RED (1998)

#### 4.1.2 Etudes de terrain

Dans le cadre de l'étude des impacts sur l'environnement de l'utilisation de biocides dans la lutte antivectorielle (LAV), une étude rend compte de l'évaluation des impacts sur les abeilles dans le cadre de l'épidémie de Chikungunya qui touche l'Île de la Réunion depuis début 2005 (Métais, 2006).

Jusqu'au 14 février les produits utilisés étaient des insecticides de la classe des organophosphorés : le fénitrothion et le téméphos. A partir du 14 février, la lutte s'est organisée plus efficacement et les insecticides ont changé. On a fait appel à la deltaméthrine et au *Bti*.

Vu la courte période étudiée, deux mois, et l'absence de moyens permettant des analyses poussées, il a été retenu comme méthode une technique simple de recueils de données sur le terrain, faite par des apiculteurs et des agents sanitaires en les orientant vers les conséquences connues que les produits utilisés pouvaient induire. Il apparaît deux tendances. Lors du premier protocole de nombreux incidents ont été répertoriés avec des pertes directes à l'entrée des ruches et des dépopulations massives et rapides des colonies entraînant leur disparition.

Lors du deuxième protocole, le nombre des incidents répertoriés a été divisé par trois. Un tiers des ruches déclarées à la DSV (Direction des Services Vétérinaires) ont été géo-

référéncées. Les apiculteurs ont été sensibilisés aux risques. L'impact sur les colonies a semblé moins fort. Il y eut cependant quelques incidents directs attribués surtout à une mauvaise coordination des services. Il semble juste de dire que l'impact des traitements est lié en grande partie aux protocoles de la LAV : de la communication des positions des ruchers d'une part et de la prise de conscience du risque par les apiculteurs d'autre part. On peut déjà établir la nécessité absolue de mettre en place une LAV en concertation avec les services de prophylaxie et des organismes apicoles.

L'élaboration de ces règles de conduites pourra ensuite faire l'objet de diffusion auprès des services de prophylaxie afin de limiter l'impact des traitements sur le cheptel apicole.

Le bilan du premier traitement effectué en 2006 indique que le respect du protocole d'application et la mise en place de celui-ci en partenariat avec les apiculteurs sont indispensables à la réduction des effets néfastes générés sur les populations d'abeilles. Le surdosage, le non-respect des distances de sécurité aux ruches, la contamination de plantes en floraison sont des facteurs ayant des répercussions importantes sur la gravité des impacts sur les abeilles. Le traitement des ravines et des points d'eau à proximité de ruches, en période d'intense activité de production de couvain nécessitant beaucoup d'eau, a eu un impact certain sur la qualité du couvain et son importance.

La prise en compte, dans le calendrier des applications, des données spécifiques de la zone traitée est indispensable. La saison de la miellée, la quantité de ressources disponibles qui peut faire varier le rayon d'action des abeilles, influençant le degré d'exposition des abeilles au produit :

Le deuxième protocole a montré qu'une organisation plus efficace pouvait permettre de diffuser des informations indispensables pour limiter l'impact, sur les abeilles, des insecticides utilisés. Il a permis également de commencer à lister des mesures de base, non exhaustives, dont l'application simple paraît efficiente.

- Un géo-référencement de l'emplacement des ruchers déclarés à la DSV.
- Une information des équipes de démoustication sur le risque de la LAV sur les abeilles.
- Une interdiction de traitement dans un rayon de 100 m autour des ruches.
- Une information des apiculteurs pour les inciter à couvrir leurs ruches le soir au passage des véhicules de traitement UBV (Ultra Bas Volume) et mettre en place un système de transhumance des ruches.

#### 4.1.3 Conclusion

Pour la préparation VECTOBAC® WG appliquée sous forme liquide, la dérive maximale pouvant atteindre les zones adjacentes est estimée par défaut à 33,2%. Considérant l'usage larvicide du *Bti*, le produit est appliqué par pulvérisation directe sur plan d'eau, ce qui peut entraîner la contamination des sols par dérive de la substance active.

La quantité maximale susceptible de contaminer les zones terrestres adjacentes est de 139,4 g s.a./ha.

Le *Bti* étant non toxique pour les abeilles, les précautions recommandées lors des applications devraient permettre d'exclure un risque pour les abeilles.

Pour la préparation VECTOBAC® G appliquée sous forme de granulés, la contamination des zones adjacentes aux points d'eau traités est considérée comme négligeable. L'impact sur les abeilles est donc improbable.

Il convient de noter que l'évaluation du risque encouru par les abeilles est supposée couvrir les risques pour les autres espèces pollinisatrices, bien que des essais avec d'autres espèces ne soient pas spécifiquement requis.

## 4.2 EFFETS SUR LES INSECTES NON-CIBLES AQUATIQUES

La littérature scientifique sur les impacts du *Bti* sur les insectes non cibles est nombreuse. Les principales conclusions sont reprises dans les paragraphes suivants.

### 4.2.1 WHO (1999)

Une littérature importante existe sur les impacts de l'exposition des organismes non cibles au *Bacillus thuringiensis*, incluant des rapports de plusieurs études à long terme sur le terrain. Les données ont été passées en revue périodiquement et font l'objet d'un rapport de l'Organisation Mondiale de la Santé (WHO, 1999, qui cite WHO, 1982 ; Lacey et Mulla, 1990 ; Melin et Cozzi, 1990 ; Molloy, 1992).

Le *Bti* est spécifique dans sa toxicité aux diptères. Néanmoins, beaucoup d'études ont testé les effets des applications de *Bti* sur un large éventail d'insectes aquatiques.

Lacey et Mulla (1990) (dans WHO, 1999) ont revu un certain nombre d'études des effets du *Bti* sur certaines espèces et populations d'arthropodes non cibles en laboratoire et en champ. Les résultats de ces études sont récapitulés dans le tableau III.13.

Tableau III.13 : Effets du *Bti* sur les arthropodes non cibles (WHO, 1999)

Arthropode, ordre	Type d'étude	Résultat <sup>a</sup>	Référence (dans WHO, 1999)
Coleoptère	Laboratoire		Schnetter <i>et al.</i> 1981
	Champ		Mulla <i>et al.</i> , 1982 ; Mulligan & Schaefer, 1982 ; Mulla, 1988
Diptère Chironomidae	Laboratoire	+	Garcia <i>et al.</i> 1980 ; Ali, 1981 Ali & Baggs, 1981 ; Schnetter <i>et al.</i> , 1981
	Champ	+	Mulla <i>et al.</i> , 1971 ; Ali, 1981 Mulligan & Schaefer, 1982 ; Rogatin & Baizhanov, 1984
	Champ	-	Miura <i>et al.</i> , 1980
Ephemeroptère	Laboratoire		Ali, 1980 ; Schnetter <i>et al.</i> , 1981 ; Mulligan & Schaefer, 1982
	Champ	-	Schnetter <i>et al.</i> , 1981 ; Mulla <i>et al.</i> , 1982, Mulligan & Schaefer, 1982 ; Mulla, 1988
Hétéroptère (Corixidae)	Champ	-	Schnetter <i>et al.</i> , 1981 ; Mulligan & Schaefer, 1982
Hétéroptère (Notonectidae)	Laboratoire	-	Schnetter <i>et al.</i> , 1981 ; Olejniczek & Maryskova, 1986 ; Aly & Mulla, 1987
	Champ	-	Mulla <i>et al.</i> , 1982 ; Mulligan & Schaefer, 1982 ; Mulla, 1988
	Champ	+	Purcell, 1981

Odonata	Laboratoire	-	Mulla & Khasawinah, 1969 ; Mulligan & Schaefer, 1982 ; Aly, 1985 ; Aly & Mulla, 1987
	Champ	-	Mulla, 1988

<sup>a</sup> - = aucun effet; + = effet observé mais cela n'implique pas nécessairement que les individus ou les populations d'arthropodes soient affectés de façon nuisible

Quatre espèces de larves de chironomidés (*Chironomus crassicaudatus*, *Chironomus decorus*, *Glyptotendipes paripes*, *Tanytarsus species*) ont été testées avec quatre préparations de *Bti*. Les larves des chironomidés étaient moins sensibles au *Bti*, environ 13 à 75 fois moins que les larves de moustique (Ali, 1981 ; Ali et Baggs 1981 dans WHO, 1999). Selon Garcia *et al.* (1980) (dans WHO, 1999), l'application de doses 50 à plusieurs centaines de fois élevées que celles utilisées pour la démoustication ont conduits à des niveaux de mortalité faibles à élevés chez certains Diptères nématocères (Ceratopogonidae, Chironomidae et Dixidae).

Schnetter *et al.* (1981) (dans WHO, 1999) ont rapporté une mortalité totale chez les larves de chironomidés (*Chironomus thummi*) exposées à des niveaux élevés de *Bti* pendant 48 h et sans nourriture. Les coléoptères aquatiques adultes collectés dans la nature exposés au *Bti* ont peu souffert sans mortalité (Schnetter *et al.*, 1981 dans WHO, 1999). Ali (1980) (dans WHO, 1999) a testé une préparation de *Bti* à 20 fois la dose larvicide utilisée contre les moustiques et n'a rapporté aucun effet nuisible contre des éphémères larvaires (espèce *Baetis*). Schnetter *et al.* (1981) (dans WHO, 1999) rapportent que des éphémères (espèce *Cloeon*) nourries avec du *Bti* à haute dose n'ont montré aucune mortalité.

Aly et Mulla (1987) (dans WHO, 1999) ont nourri des notonectes (*Notonecta undulata*), du 4<sup>ème</sup> au 5<sup>ème</sup> instar, avec des larves de moustique contaminées par du *Bti* (*Culex quinquefasciatus*). Les prédateurs ont été nourris avec 10 larves contaminées par prédateur par jour pendant 4 jours, puis ont été nourris avec des larves non contaminées. Ces prédateurs ont été observés pendant 15 à 17 jours. Les notonectes nymphes et adultes n'ont montré aucun effet néfaste. De même, Olejniczek et Maryskova (1986) (dans WHO, 1999) n'ont observé aucune mortalité chez des notonectes (*Notonecta glauca*) nourris avec des larves de moustique contaminées au *Bti*. Schnetter *et al.* (1981) n'ont observé aucune mortalité chez des notonectes (*Notonecta glauca*) exposés pendant 48 h à des niveaux élevés de *Bti*.

Des larves de moustique contaminées avec des doses extrêmement élevées de *Bti* ont été données comme nourriture aux naïades de libellule (*Tarnetrum corruptum*) et à des demoiselles *Enallagma civile* ; la durée du développement des naïades de libellule et de demoiselles, de l'exposition jusqu'à l'émergence, n'a pas été affectée (Aly, 1985 ; Aly et Mulla, 1987 dans WHO, 1999).

Merritt *et al.* (1989) (dans WHO, 1999) ont montré qu'il n'y avait pas d'impact sur la dérive des invertébrés aquatiques, ou sur le nombre de ces invertébrés dans les échantillons benthiques, durant un programme de surveillance de mouches noires (espèce *Simulium*). Aux Etats-Unis, Molloy (1992) (dans WHO, 1999) a passé en revue dix essais de terrain où le *Bti* a été employé contre des larves de mouches noires (*Simulium*). Il a conclu que, bien qu'il y ait un potentiel pour un impact défavorable du *Bti* sur les chironomes filtreurs, l'impact sur la communauté d'insectes dans le courant était très faible.

Sur une période de trois saisons, le *Bti* appliqué aux doses nécessaires pour lutter contre les larves de moustique n'a eu aucun effet nuisible sur les larves des coléoptères dytique (Dytiscidae) ou des hydrophyles (Hydrophylidae) (Mulla *et al.*, 1982 ; Mulla, 1988 (dans

WHO, 1999)). L'application d'une formulation de *Bti* dans un marais sauvage n'a montré aucun effet nuisible sur des larves de coléoptère (Mulligan et Schaefer, 1982 dans WHO, 1999).

Ali (1981) (dans WHO, 1999) a évalué l'efficacité de différents niveaux de *Bti* (préparation) contre des chironomes (Chironominae et Tanytarsinae) et a obtenu des mortalités à des doses plus élevées que celles utilisées pour le contrôle des larves de moustiques. En appliquant des doses larvicides d'un produit commercial de *Bti*, Miura *et al.* (1980) (dans WHO, 1999) ont montré qu'il n'y avait pas de baisse des populations de chironomes après traitement.

Mulla *et al.* (1971) (dans WHO, 1999) ont montré une diminution marquée de certaines populations de chironomes, en utilisant un produit commercial de *Bti* à des doses de 20 à 40 fois plus élevées que les doses recommandées. Mulligan et Schaefer (1982) (dans WHO, 1999) ont observé une réduction de 40 à de 70 % de certaines espèces de chironomes après application d'une préparation de *Bti* sur un marais naturel. Rogatin et Baizhanov (1984) (dans WHO, 1999) ont noté une réduction significative de chironomes après une exposition de *Bti*.

De nombreuses observations quantitatives ont été faites sur des nymphes d'éphémères, principalement *Callibaetis pacificus*, mais aucun effet notable n'a été observé après application du *Bti* contre des larves de moustiques (Mulla *et al.*, 1982 ; Mulla, 1988 dans WHO, 1999). Mulligan et Schaefer (1982) (dans WHO, 1999) ont constaté que le *Bti* n'a pas affecté les nymphes d'éphémères (espèce *Callibaetis*). Schnetter *et al.* (1981) (dans WHO, 1999) ont montré que les éphémères (espèce *Cloeon*) n'étaient pas affectés quand le *Bti* était employé dans les habitats larvaires des moustiques (*Aedes vexans*). Ils ont collectés des corises (*Corisella*) dans les habitats larvaires de moustiques sur le Rhin en Allemagne. La population de corises n'a pas été affectée après exposition au *Bti* durant 48 h. Des effets nuisibles ont été notés sur des notonectes (*Buena*, *Notonecta undulata*, et *Notonecta unifasciata*) pendant des tests en champ avec du *Bti* (Mulla *et al.*, 1982 ; Mulla, 1988 dans WHO, 1999). Mulligan et Schaefer (1982) (dans WHO, 1999) ont observé que les populations de notonectes (*Notonecta*) dans un marécage n'étaient pas affectées par l'application d'une préparation de *Bti*. Purcell (1981) (dans WHO, 1999) a noté une réduction des populations des notonectes (*Buena elegans*, *Notonecta indica*) après application de *Bti*, mais a attribué cette baisse à l'activité de vol de ces prédateurs.

Aucun effet nuisible sur des naïades de libellules (*Tarnetrum corruptum*) et demoiselles (*Enallagma civile*) n'a été observé après application de *Bti* contre les populations larvaires de moustiques (Mulla et Khasawinah, 1969 ; Mulla, 1988 dans WHO, 1999).

Aucune réduction notable du nombre de nymphes de plusieurs espèces de libellules (*Anisoptera*) et de demoiselles (*Zygoptera*) ne s'est produite après application de *Bti* sur des marécages (Mulligan et Schaefer, 1982 dans WHO, 1999).

Le programme de gestion de l'onchocercose en Afrique occidentale a utilisé plus de cinq millions de litres de *Bti* de 1982 à 1997 pour le contrôle des mouches noires (*Simulium damnosum*), vecteur du ver parasite *Onchocerca volvulus* sur les fleuves de la Haute-Volta. Pendant le suivi de ce programme, peu ou pas d'effet sur les populations non cibles ont été observés. Cependant, peu de détails ont été fournis (Yameogo *et al.*, 1988 ; Levêque *et al.*, 1988 ; Calamari *et al.*, 1998, dans WHO, 1999).

#### 4.2.2 EPA (1998)

Les études sur certains insectes coléoptères, hyménoptères et neuroptères n'ont montré aucune toxicité ni pathogénicité du *Bti*. Les résultats sont reportés dans le tableau III.14.

Tableau III.14 : Toxicité du *Bti* sur les arthropodes non cibles

Espèce	Type de test	Critère de toxicité	Résultat	Référence
Chrysope verte <i>Chrysoperla carnea</i>	16 jours, US-EPA 154-23	CL <sub>50</sub> DSEO	> 1,5.10 <sup>8</sup> ufc/g nourriture 2,5.10 <sup>4</sup> ufc/g nourriture	EPA (1998)
Hyménoptère parasitaire	30 jours, US-EPA 154-23	CL <sub>50</sub>	> 7,9.10 <sup>7</sup> ufc/g nourriture	EPA (1998)
Coléoptère, coccinelle	9 jours, US-EPA 154-23	CL <sub>50</sub>	> 1,8.10 <sup>8</sup> ufc/g nourriture	EPA (1998)

#### 4.2.3 Lacoursière et Boisvert (2004)

" Prédateurs (ex. : odonates, plécoptères, trichoptères, hémiptères, coléoptères, têtards et poissons) et détritivores (ex. : crustacés, éphémères, plécoptères) consomment des larves de moustiques et de mouches noires mortes d'un traitement au *Bti* sans que leur croissance ni leur émergence n'en soient affectées " (Sebastien et Brust 1881 ; Lacey et Dame 1982 ; Olejnicek et Maryskova 1986 ; Aly et Mulla 1987 ; Leclair *et al.* 1988 ; Mulla 1990 ; Wipfli *et al.* 1994 ; Wipfli et Merritt 1994a, 1994b dans Lacoursière et Boisvert, 2004). De plus, Wipfli et Merritt (1994a) (dans Lacoursière et Boisvert, 2004) ont remarqué que, suivant un traitement au *Bti*, les espèces détritivores troquent les morceaux de matières organiques dont ils se nourrissent habituellement pour les cadavres de larves de mouches noires. Ils indiquent aussi que la majorité des prédateurs ne démontrent généralement pas de préférence dans la consommation de larves mortes ou vivantes, mais que certaines espèces peuvent afficher des préférences transitoires. Certains chercheurs (Wotton *et al.* 1993 dans Lacoursière et Boisvert, 2004) signalent cependant que " les habitudes alimentaires d'une espèce prédatrice peuvent fluctuer d'un individu à l'autre et d'une journée à l'autre. Wipfli et Merritt (1994b) (dans Lacoursière et Boisvert, 2004) ont aussi observé que la réduction du nombre de larves de mouches noires peut affecter de façon différente le comportement alimentaire d'un prédateur de type spécialiste (préférant un type de proies) et celui de type généraliste (n'ayant pas vraiment de préférence pour un type de proies). Ils précisent que, dans un milieu pauvre en larves de mouches noires, les prédateurs généralistes seront les moins affectés puisque ceux-ci consomment plus aisément des proies « alternatives ». Ils signalent cependant que la croissance de ces mêmes prédateurs dans un environnement pauvre ou riche en larves de mouches noires est identique. "

#### 4.2.4 Conclusion

Les études consacrées aux préparations de *Bti* ont montré qu'elles étaient d'un niveau de risque non préoccupant pour la plupart des arthropodes aquatiques non visés. Certains moucherons (chironomides appartenant à l'ordre des diptères) très proches des moustiques se sont révélés sensibles à de fortes doses de *Bti* mais ne sont nullement affectés aux doses utilisées pour la destruction des larves de moustiques.

### 4.3 EFFETS SUR LES INSECTES NON-CIBLES TERRESTRES

Aucune donnée n'est disponible dans la littérature scientifique sur les impacts du *Bti* sur les insectes non cibles terrestres. Néanmoins, plusieurs études ont été conduites sur ce type d'organisme avec d'autres sous-espèces de *Bt*, telles que le *Btk*, le *Bte*, le *Btg* et le *Btt*.

L'ensemble des résultats montre une absence d'effets significatifs liés au traitement par *Bt* (WHO, 1999).

Comme le produit est appliqué directement sur l'eau, le risque pour les insectes non cibles terrestres ne peut être dû qu'à la contamination du sol par la dérive de pulvérisation.

Par conséquent, seule la préparation VECTOBAC® WG appliquée sous forme liquide, pourrait entraîner une contamination des sols. La dérive maximum pouvant atteindre les zones adjacentes est estimée par défaut à 33,2%.

Les insectes non cibles terrestres ne semblent pas sensibles au *Bti* puisque aucun effet significatif n'a été rapporté après traitement avec d'autres sous-espèces de *Bt*, mais en l'absence de données quantitatives, le risque pour les insectes terrestres suite à l'application de la préparation à base de *Bti* ne peut être écarté.

Pour la préparation VECTOBAC® G appliquée sous forme de granulés, la contamination des zones adjacentes aux points d'eau traités est considérée comme négligeable. L'impact sur les insectes non cibles terrestres est donc négligeable.

#### 4.4 EFFETS SUR LES VERS DE TERRE

Dans le rapport rédigé pour le Ministère de la Santé en Nouvelle-Zélande, Glare et O'Collaghan (1998) classent dans les espèces non sensibles au *Bti* les espèces suivantes :

Tableau III.15 : Espèces non sensibles au *Bti* sur les vers de terre

Espèce	Référence primaire
<b>Naididae</b>	Abbott Laboratories; Garcia <i>et al.</i> 1980
<b>Lumbricidae</b> <i>Tubifex</i> sp.	Becker and Margalit 1993
<i>Oligochaeta</i>	Beck 1982

Comme le produit est appliqué directement sur l'eau, le risque pour les vers de terre ne peut être dû qu'à la contamination du sol par la dérive de pulvérisation.

Par conséquent, seule la préparation VECTOBAC® WG appliquée sous forme liquide, pourrait entraîner une contamination des sols. La dérive maximum pouvant atteindre les zones adjacentes est estimée par défaut à 33,2%.

Les vers de terre ne sont pas sensibles au *Bti* mais en l'absence de données quantitatives, le risque pour les vers de terre suite à l'application de la préparation à base de *Bti* ne peut être écarté.

Pour la préparation VECTOBAC® G appliquée sous forme de granulés, la contamination des zones adjacentes aux points d'eau traités est considérée comme négligeable. L'impact sur les vers de terre est donc négligeable.

## 5 CONCLUSION GENERALE

### Toxicité sur les organismes aquatiques

Avec des  $CL_{50}$  aqueuses variant de  $8,7 \cdot 10^9$  à  $1,7 \cdot 10^{10}$  ufc/L, aucune toxicité ni pathogénicité ne sont montrées chez les poissons.

Avec une  $CL_{50}$  comprise entre 5 et 50 ppm, le *Bti* peut être considéré comme modérément toxique pour les daphnies.

Peu d'espèces marine ou estuarienne ont été testées. Cependant, les études conduites sur de telles espèces ne montrent aucune toxicité ni pathogénicité du *Bti* sur les copépodes, les crevettes.

Pour avoir un effet toxique, les  $\delta$ -endotoxines du *B. thuringiensis* doivent être ingérées par un organisme et exposées aux enzymes digestives appropriées à un pH de 9,0 à 10,5. Par conséquent, elle est sans effet sur les végétaux terrestres, semi-aquatiques et aquatiques. Ainsi, la toxicité du *Bti* sur les algues et les plantes aquatiques n'a fait l'objet d'aucune recherche et aucune donnée de littérature n'est disponible.

De plus, malgré l'utilisation très répandue de cet agent antiparasitaire sur les végétaux, la littérature scientifique ne fait état d'aucun autre effet nocif causé par les différentes toxines issues des souches du *B. thuringiensis*.

Le rapport CPE/CPSE calculé dans des conditions très conservatrices conduit à une préoccupation importante pour les organismes aquatiques dans les conditions proposées d'utilisation.

Cependant, des études de suivi des organismes aquatiques ont été conduites sur le terrain, en milieux naturels ou semi-naturels. À l'exception d'une étude qui indique une diminution possible du nombre d'espèces prédatrices, l'ensemble des études conclut qu'aucun effet négatif n'est apparu sur le développement et la structure des communautés non cibles lors de traitements de populations de moustiques. Néanmoins, il pourrait sembler judicieux de mettre en place un suivi des impacts de tels traitements.

### Effets sur les oiseaux et les mammifères

Le risque a été évalué pour les oiseaux qui se nourrissent sur les zones adjacentes aux zones traitées de plantes ou d'insectes contaminés par la dérive de pulvérisation au moment de l'application de la préparation VECTOBAC® WG. Le risque est considéré comme acceptable après exposition aiguë, à court et long terme.

Le risque encouru par les oiseaux ou mammifères se nourrissant de vers de terre ou de poissons contaminés est négligeable car le *Bti* ne peut se bioaccumuler.

Le risque pour les oiseaux et les mammifères terrestres dû à l'absorption d'eau contaminée suite à l'application de *Bti* est considéré comme acceptable.

La raison de la non toxicité du *Bti* sur les oiseaux et mammifères est due au fait que l'activation des toxines du *Bti* n'est possible qu'en présence des conditions d'alcalinité et de la présence de récepteurs membranaires spécifiques que l'on retrouve dans l'appareil digestif de certains insectes mais pas chez les mammifères ou oiseaux.

Une étude de suivi des oiseaux a été conduite à la Réunion afin d'évaluer l'impact sur l'environnement de l'utilisation de biocides dans la lutte antivectorielle (LAV). Les résultats de ces études ne mettent pas en évidence d'impact majeur des traitements insecticides ni sur la faune des jardins en mars 2006, ni sur la reproduction des salanganes, espèce typique de l'île, ni sur la présence de chiroptères.

### Effets sur les abeilles

Pour la préparation VECTOBAC® WG appliquée sous forme liquide, la dérive maximale pouvant atteindre les zones adjacentes est estimée par défaut à 33,2%. Considérant l'usage larvicide du *Bti*, le produit est appliqué par pulvérisation directe sur plan d'eau, ce qui peut entraîner la contamination des sols par dérive de la substance active.

Cependant, le *Bti* étant non toxique pour les abeilles, les précautions recommandées lors des applications devraient permettre d'exclure un risque pour les abeilles.

Une organisation plus efficace dans la LAV pourrait permettre de diffuser des informations indispensables pour limiter l'impact des insecticides utilisés sur les abeilles. Une liste des mesures de base, non exhaustives, dont l'application simple paraît efficace, a été initiée :

- Un géo-référencement de l'emplacement des ruchers déclarés à la DSV.
- Une information des équipes de démoustication sur le risque de la LAV sur les abeilles.
- Une interdiction de traitement dans un rayon de 100 m autour des ruches.
- Une information des apiculteurs pour les inciter à couvrir leurs ruches le soir au passage des véhicules de traitement UBV (Ultra Bas Volume) et mettre en place un système de transhumance des ruches.

Pour la préparation VECTOBAC® G appliquée sous forme de granulés, la contamination des zones adjacentes aux points d'eau traités est considérée comme négligeable. L'impact sur les abeilles est donc négligeable.

### Effets sur les insectes non cibles

Les études consacrées aux préparations de *Bti* ont montré qu'elles étaient d'un faible danger pour la plupart des arthropodes aquatiques non visés. Certains moucherons (chironomides appartenant à l'ordre des diptères) très proches des moustiques se sont révélés sensibles à de fortes doses de *Bti* mais ne sont nullement affectés aux doses utilisées pour la destruction des larves de moustiques.

Le *Bti* n'a pas été testé sur les insectes non cibles du sol. Néanmoins, des études conduites avec d'autres sous-espèces de *Bt* n'ont pas révélé d'effets significatifs liés au traitement.

### Effets sur les vers de terre

Les vers de terre sont non sensibles au *Bti* mais en l'absence de données quantitatives, le risque pour les vers de terre suite à l'application de la préparation à base de *Bti* ne peut être écarté.

Le *Bti* ne devient toxique qu'une fois présent dans l'estomac des larves de moustiques ou de simulies. Le *Bti* n'a donc aucun effet sur les autres insectes comme l'abeille domestique, ni sur les poissons, les oiseaux ou les mammifères. De plus, les toxines insecticides sont en outre rapidement biodégradées dans l'environnement par les rayons solaires et les microorganismes.

L'ensemble des résultats est présenté dans le tableau III.16.

Tableau III.16 : Récapitulatif de l'évaluation quantitative du risque écotoxicologique pour l'application des produits contenant du *Bti*.

Type d'organisme		CPSE si existante	Résultat (comparaison avec la valeur seuil)	Risque quantitatif	Analyse* mécanistique	
<b>Aquatiques</b>	<b>Général</b>	25 µg/L	CPE/CPSE = 16,7 (> 1)	Non écarté	Risque non probable	
<b>Terrestres</b>	<b>Oiseaux</b>	<i>Buvant l'eau</i>	-	RTE = $2,8 \cdot 10^4$ (> 5)	Ecarté	Risque non probable
		<i>Se nourrissant de poissons</i>	-	-	-	Risque non probable
		<i>Se nourrissant de vers de terre</i>	-	-	-	Risque non probable
		<i>Zone adjacente</i>	-	RTE <sub>aigu</sub> = 198 (> 10)	Ecarté	Risque non probable
	-		RTE <sub>court terme</sub> = 333	Ecarté		
	<b>Mammifères</b>	<i>Buvant l'eau</i>	-	RTE = $6,1 \cdot 10^4$ (> 5)	Ecarté	Risque non probable
		<i>Se nourrissant de poissons</i>	-	-	-	Risque non probable
		<i>Se nourrissant de vers de terre</i>	-	-	-	Risque non probable
		<i>Zone adjacente</i>	-	RTE <sub>aigu</sub> = 86 (> 10)	Ecarté	Risque non probable
			-	RTE <sub>long terme</sub> = 246 (> 10)	Ecarté	
		<b>Abeilles</b>	-	-	-	Risque non probable
		<b>Insectes non cibles aquatiques et terrestres</b>	-	-	-	Risque non probable
		<b>Vers de terre</b>	-	-	-	Risque non probable

\* Estimation du risque basée sur le mécanisme d'action du *Bti*, son devenir dans l'environnement et sur l'expérience liée aux campagnes d'utilisation du *Bti*

---

## LISTE DES REFERENCES

**Partie I :** Liste des revues issues des organismes officiels et utilisées pour la constitution de ce document :

- BioPesticide Manual (2001) 2nd Edition, Extrait du BioPesticide Manual (*Bacillus thuringiensis* 1:23 à 1:25, pages 38 à 41)
- EPA (1998) Reregistration Eligibility Decision (RED) *Bacillus thuringiensis*
- Glare T.R. et O'Callaghan M. (1998) Environmental & health impacts of *Bacillus thuringiensis israelensis*, Report for the Ministry of Health, Nouvelle-Zélande
- Lacoursière J.O. et Boisvert J. (2004) Le *Bacillus thuringiensis israelensis* et le contrôle des insectes piqueurs au Québec, Envirodoq : ENV/2004/0278, sur <http://www.mddep.gouv.qc.ca/pesticides/virus-nil/bti/index.htm#resume>)
- PSD (1992) Advisory Committee on Pesticides. Evaluation on: *Bti* (2). Issue No. 105.
- Stark (2005) A Review and Update of the Report "Environmental and health impacts of *Bacillus thuringiensis israelensis*" 1998 by Travis R. Glare and Maureen O'Callaghan, Rapport pour le Ministère de la Santé de la Nouvelle-Zélande
- WHO (1999), Environmental Health Criteria 217 – Microbial Pest Control Agent *Bacillus thuringiensis*

**Partie II :** Liste des documents utilisés pour la constitution de ce document :

- ARDA-OLE-BNOI (2006) Rapport final ARDA-OLE-BNOI, Juin 2006. Impacts sur l'environnement de la lutte contre le Chikungunya à l'Île de La Réunion. Présentation des résultats du réseau d'alerte volet : « Surveillance des eaux douces », p. 3 / 69
- Devaux (2006) Compte-rendu : suivi de chauves-souris pour la DIREN, ONF. 26 juin 2006
- DIREN Réunion (2006) Premier bilan sur les impacts des traitements anti moustiques, dans le cadre de la lutte contre le Chikungunya sur les espèces et les milieux de l'Île de la Réunion. Rapport rédigé par le Comité scientifique ad-hoc créé le 15 mars 2005
- EC (2002) Guidance document on risk assessment for birds and mammals under council directive 91/414/EEC. European Commission, SANCO/4145/2000, 24 September 2002
- EPPO (1994): Decision-making scheme for the environmental risk assessment of plant protection products. Chapter 11, terrestrial vertebrates. EPPO Bulletin, Vol. 24, No. 1, March 1994
- FOCUS (2001). "FOCUS Surface Water Scenarios in the EU Evaluation Process under 91/414/EEC". Rapport du groupe de travail FOCUS sur les Scénarios Eaux de Surface, Document EC Référence SANCO/4802/2001-rev.2. 245 pp

- Métais E. (2006) Etude des impacts à court terme de la lutte antivectorielle sur les abeilles dans le cadre de l'épidémie de Chikungunya. Syndicat apicole de la Réunion, Etude DIREN – Volet Abeilles
- OCDE (2006) OECD Task Force on Biocides 2nd Draft Emission Scenario Document for Insecticides, acaricides and products to control other arthropods (PT 18) for household and professional uses », du 28 juillet 2006
- Salamolard M. et Monta M., Juin 2006. Evaluation de l'impact des traitements de démoustication sur la faune vertébrée, S.E.O.R. (Société d'Etudes Ornithologiques de la Réunion).
- TGD (2003) Technical Guidance Document on risk assessment, Institute for Health and Consumer Protection, European Chemical Bureau, EUR 20418 EN/2, 2003

**Partie III:** Liste des références primaires des études discutées dans ce document :

- Ali, A.. 1981. *Bacillus thuringiensis* serovar. *israelensis* (ABG-6108) against Chironomids (Diptera: Chironomidae) and some nontarget aquatic invertebrates. *Journal of Invertebrate Pathology*. 38 : 264-272.
- Ali A & Baggs RD (1981) Susceptibility of some Florida chironomids and mosquitoes to various formulations of *Bacillus thuringiensis* serovar. *israelensis* de Barjac. *J Econ Entomol*, 74: 672-677.
- Aly C (1985) Germination of *Bacillus thuringiensis* var. *israelensis* spores in the gut of *Aedes* larvae (Diptera: Culicidae). *J Invertebr Pathol*, 45: 1-8.
- Aly C & Mulla MS (1987) Effect of two microbial insecticides on aquatic predators of mosquitoes. *J Appl Entomol*, 103: 113-118.
- Balcer, M. D., K. L. Schrud, A. R. Lima et L. Shannon. 2004. Effects of 8-year *Bacillus thuringiensis israelensis* (Bti) or methoprene treatment on wetland nontarget macroinvertebrates. Manuscrit en préparation.
- Beck, W. R. (1982). Current status of the biological larvicide, Teknar. *Proceedings, Sixty-Ninth Annual Meeting, New Jersey Mosquito Control Association, Atlantic City, New Jersey, 17-19 March 1982*. Pp 83-90.
- Becker, N., D. Petric, M. Zgomba, C. Boase, C. Dahl, J. Lane et A. Kaiser. 2003. pp. 345-375. Mosquitoes and their control. Kluwer Academic / Plenum Publishers (Ed.). New York.
- Becker, N. et J. Margalit. 1993. Use of *Bacillus thuringiensis israelensis* against mosquitoes and blackflies. pp. 147-170. Dans *Bacillus thuringiensis, an environmental biopesticide: theory and practice*. P. F. Entwistle, J. S. Cory, M. J. Bailey et S. Higgs (Eds.), John Wiley & Sons Ltd.
- Calamari, D., L. Yaméogo, J.M. Hougard et C. Levèque. 1998. Environmental assessment of larvicide use in the Onchocerciasis Control Programme. *Parasitology Today*. 14 : 485-489.
- Calder WA and Braun EJ (1983): Scaling of osmotic regulation in mammals and birds. *Amer J. Physiol* 244, R601-R606.

- Crosa, G., L. Yaméogo, D. Calamari, F. Kondé et K. Nabé. 2001. Effects of larvicide treatment on invertebrate communities of Guinean rivers, West Africa *Hydrobiologia*. 458 : 51-158
- Dejoux, C. et J. M. Elouard. 1990. Potential impact of microbial insecticides on the freshwater environment, with special reference to the WHO/UNDP/World Bank, Onchocerciasis Control Programme. pp. 66-83. Dans *Safety of Microbial Insecticides*. M. Laird, L. A. Lacey et E. W. Davidson (Eds.). CRC Press, Boca Raton.
- Fischer DL and Bowers LM (1997): Summary of field measurement of pesticide concentrations in invertebrate prey of birds. Unpubl. Ms.
- Fletcher JS, Nellessen JE and Pflieger TG (1994): Literature review and evaluation of the EPA food-chain (Kenaga) nomogram, in instrument for estimating pesticide residues on plants. *Environ Toxicol Chem* 9, 1383-1391.
- Frommer, R.L., Hembree, S.C, Nelson, J.H., Remington, M.P. and Gibbs, P.H. (1981). The distribution of *Bacillus thuringiensis* var. *israelensis* in flowing water with no extensive aquatic vegetative growth. *Mosquito News* 412 (2): 331-336.
- Garcia, R., B. DesRochers et W. Tozer. 1980. Studies on the toxicity of *Bacillus thuringiensis* var. *israelensis* against organisms found in association with mosquito larvae. *Proceedings and Papers of the California Mosquito and Vector Control Association*. 48 : 33-36.
- Gaugler, R. and Finney, J.R., (1982). A review of *Bacillus thuringiensis* var. *israelensis* (Serotype 14) as a biological control agent of black flies (Simuliidae). *Miscellaneous publications of the Entomological Society of America* 12 (4): 1-30
- Hanowski, J.M., Niemi, G.J., Lima, A.R., Regal, R.R. 1997. Response of breeding birds to mosquito control treatments of wetlands. *Wetlands* 17: 485-492.
- Hershey, A. E., A. R. Lima, G. J. Niemi et R. R. Regal. 1998. Effects of *Bacillus thuringiensis israelensis* (*Bti*) and methoprene on nontarget macroinvertebrates in Minnesota wetlands. *Ecological Applications*. 8 : 41-60.
- Jackson, J. K., R. J. Horwitz et B. W. Sweeney. 2002. Effects of *Bacillus thuringiensis israelensis* on black flies and nontarget macroinvertebrates and fish in a large river. *Transactions of the American Fisheries Society*. 131 : 910-930.
- Kreuziger 1998. Effects of large-scale restoration processes on the bird community of a riverfloodplain. *Vogelwelt* 119: 65-90.
- Krieg, A., Hassan, S. & Pinsdorf, W. (1980). Comparison of the effect of the variety *israelensis* with other varieties of *Bacillus thuringiensis* on nontarget organisms of the order Hymenoptera: *Trichogramma cacoeciae* and *Apis mellifera*. *Anzeiger für Schadlingskunde Pflanzenschutz Umweltschutz* 53, 81-83.
- Kurtak, D. C., J. Grünwald et J. A. T. Baldry. 1987. Control of black fly vector of onchocerciasis in Africa, pp. 431-362. Dans *Black flies: ecology, population management, and annotated world list*. K. C. Kim et R. W. Merritt (Eds.), The Pennsylvania State University Press, U.S.A.
- Lacey, L. A. et M. S. Mulla. 1990. Safety of *Bacillus thuringiensis* var. *israelensis* and *Bacillus sphaericus* to nontarget organisms in the aquatic environment. pp. 170-188. Dans *Safety of microbial insecticides*. M. Laird, L. L. Lacey et E. W. Davidson (Eds.), CRC Press Inc., Florida, USA. 259 p.

- Lacey, L. A. et D. A. Dame. 1982. The effect of *Bacillus thuringiensis* var. *israelensis* on *Toxorhynchites rutilus rutilus* (Diptera: Culicidae) in the presence and absence of prey. *Journal of Medical Entomology*. 19 : 593-596.
- Leclair, R., G. Charpentier, F. Pronovost et S. Trottier. 1988. Progress report to the Metropolitan Mosquito Control District on the effects of the insect control agent, *Bacillus thuringiensis israelensis* (*Bti*), to some larval amphibian species. Groupe de Recherches sur les Insectes Piqueurs (GRIP), Département de chimie-biologie, Université du Québec à Trois-Rivières (Québec) Canada. 25 p.
- Levêque C, Fairhurst CP, Abbau K, Pangy D, Curtis MS, & Traoré K (1988) Onchocerciasis control programme in West Africa: ten years of monitoring fish populations. *Chemosphere*, 17: 421-440.
- Merritt, T.W., Walker, E.D., Wilzbach, M.A., Cummins, K.W. and Morgan, W.T. (1989). A broad evaluation of *Bti* for black fly (Diptera: Simuliidae) control in a Michigan river Efficacy, carry and non target effects on invertebrates and fish. *Journal of the American Mosquito Control Association* 5: 397-415.
- Miura T, Takahashi RM, & Mulligan FS III (1980) Effects of the bacterial mosquito larvicide, *Bacillus thuringiensis* serotype H-14 on selected aquatic organisms. *Mosq News*, 40: 619-622.
- Molloy, D. 1992. Impact of the black fly (Diptera: Simuliidae) control agent *Bacillus thuringiensis* var. *israelensis* on chironomids (Diptera: Chironomidae) and other nontarget insects: results of ten fields trails. *Journal of the American Mosquito Control Association*. 8 : 24-31
- Mulla, M. S.. 1990. Activity, field efficacy, and use of *Bacillus thuringiensis israelensis* against mosquito. pp. 134-160 Dans *Bacterial control of mosquitoes and black flies: biochemistry, genetics and applications of Bacillus thuringiensis israelensis and Bacillus sphaericus*. H. de Barjac and D. J. Sutherland (Eds.), Rutgers University Press, New Brunswick.
- Mulla MS (1988) Activity, field efficacy and use of *Bacillus thuringiensis* (H-14) against mosquitoes. In: de Barjac H & Sutherland DJ ed. *Bacterial control of mosquitoes and blackflies*. New Brunswick, New Jersey, Rutgers University Press.
- Mulla MS, Federici BA, & Darwazeh HA (1982) Larvicidal efficacy of *Bacillus thuringiensis* serotype H-14 against stagnant-water mosquitoes and its effects on nontarget organisms. *Environ Entomol*, 11: 788-795.
- Mulla MS, Norland RL, Fanara DM, Darwazeh HA, & McKean DW (1971) Control of chironomid midges in recreational lakes. *J Econ Entomol* 64(1): 300-307.
- Mulligan FS III & Schaefer CH (1982) Integration of a selective mosquito control agent *Bacillus thuringiensis* serotype H-14, with natural predator populations in pesticide-sensitive habitats. *Proc Calif Mosq Vector Control Assoc*, 49: 19-22.
- Mulla MS & Khasawinah AM (1969) Laboratory and field evaluation of larvicides against chironomid midges. *J Econ Entomol*, 62: 37-41.
- Niemi, G. J., A. E. Hershey, L. Shannon, J. M. Hanowski. A. Lima, R. P. Axler et R. R. Regal. 1999. Ecological effects of mosquito control on zooplankton, insects and birds. *Environmental Toxicology and Chemistry*. 18 : 549-559.
- Olejnicek J & Maryskova B (1986), The influence of *Bacillus thuringiensis* on the mosquito predator *Notonecta glauca*. *Folia Parasitol (Prague)*, 37: 279

- 
- Purcell BH (1981) Effects of *Bacillus thuringiensis* var. *israelensis* on *Aedes taeniorhynchus* and some non-target organisms in the salt marsh. *Mosq News*, 41(3): 476-484.
  - Rogatin AB & Baizhanov M (1984) [Laboratory study of *Bacillus thuringiensis israelensis* serotype H-14 on various groups of hydrobionts.] *Izv Akad Nauk Kaz SSR Ser Biol*, D6: 22-25 (in Russian).
  - Schnetter W, Engler S, Morawcsik J, & Becker N (1981) [Efficacy of *Bacillus thuringiensis* var. *israelensis* against mosquito larvae and non-target organisms.] *Mitt Dtsch Ges Allg Angew Entomol*, 2:195-202 (in German).
  - Sebastien, R. J. et R. A. Brust. 1981. An evaluation of two formulations of *Bacillus thuringiensis* var. *israelensis* for larval mosquito control in sod-lined simulated pools. *Mosquito News*. 41 : 508-512.
  - Yameogo L, Levêque C, Traoré K, & Fairhurst CP (1988) Dix ans de surveillance de la faune aquatique des rivières d'Afrique de l'Ouest traitées contre les Simulides (Diptera: Simuliidae), agents vecteurs de l'onchocercose humaine. *Nat Can*, 115: 287-298.
  - Wipfli, M. S., R. W. Merritt et W. W. Taylor. 1994. Low toxicity of the black fly (Diptera: Simuliidae) larvicide *Bacillus thuringiensis* var. *israelensis* to early stages of brook trout, *Salvelinus fontinalis*; brown trout, *Salmo trutta*; and steelhead trout, *Onchorychus mykiss* following direct and indirect exposure. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*. 51 : 1451-1458.
  - Wipfli, M. S. et R. W. Merritt. 1994a. Effects of *Bacillus thuringiensis* var. *israelensis* on nontarget benthic macroinvertebrates through direct and indirect exposure. *Journal of the North America Benthological Society*. 13 : 190-205
  - Wipfli, M. S. et R. W. Merritt. 1994b. Disturbance to a stream food web by a bacterial larvicide specific to black flies: feeding responses of predatory macroinvertebrates. *Freshwater Biology*. 32: 91-103.
  - Wotton, R. S., B. Malmqvist, T. Muotka et K. Larsson. 1998. Fecal pellets form a dense aggregation of suspension feeders: an example of ecosystem engineering in a stream. *Limnology and Oceanography*. 43 : 719-725.



CEHTRA  
43 rue Laroque  
33560 Sainte Eulalie  
France

Tel (33) 5 57 77 56 10  
Fax (33) 5 57 77 56 20  
[www.cehtra.fr](http://www.cehtra.fr)

# ***Bacillus thuringiensis israelensis (Bti)***

## **IV - Toxicologie**

**DATE**

**Juillet 2007**

---

**TABLE DES MATIERES**

<b>1. Introduction.....</b>	<b>264</b>
<b>2. toxicocinetique .....</b>	<b>265</b>
<b>3. Toxicité aiguë .....</b>	<b>266</b>
<b>4. Tolerance locale .....</b>	<b>267</b>
<b>5. Toxicité Subchronique.....</b>	<b>268</b>
<b>6. Mutagenese.....</b>	<b>268</b>
<b>7. Etudes chroniques et oncogenicit� .....</b>	<b>268</b>
7.1. Etude combinée Toxicité chronique/cancerogénicité chez le Rat.....	268
7.2. Etude combinée Toxicité chronique/cancerogénicité chez la SOURIS.....	268
<b>8. Développement et reproduction.....</b>	<b>269</b>
8.1. Toxicité de la reproduction.....	269
8.2. Teratogenicité .....	269
<b>9. Etudes de neurotoxicité .....</b>	<b>269</b>
<b>10. Effets sur la santé humaine.....</b>	<b>269</b>
<b>11. Selection de la DSEIO et des facteurs de securite pour l'evaluation des risques pour les operateurs ou les accompagnants et personnes presentes.....</b>	<b>269</b>
11.1. Selection de la DSEIO la plus pertinente .....	269
11.2. Selection des facteurs de securité les plus pertinents.....	270
<b>12. conclusion generale sur la toxicité de la matiere active.....</b>	<b>271</b>

## 1 INTRODUCTION

Les produits à base de *Bacillus thuringiensis israelensis* (*Bti*) contenant les spores et le cristal d'endotoxines de *Bti* H14 sont largement utilisés comme larvicide.

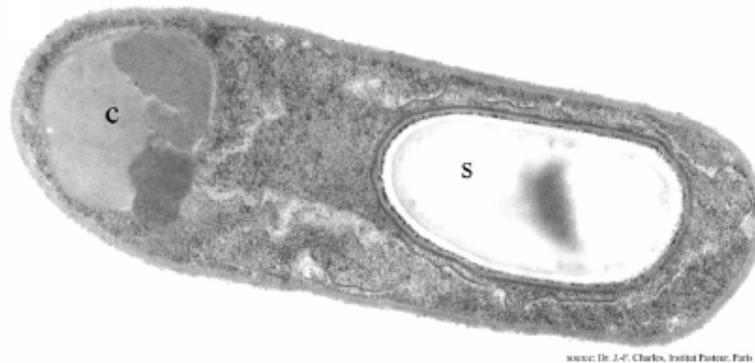


Figure IV.1. : *Bacillus thuringiensis israelensis* en phase de sporulation et de production de l'inclusion cristalline. Le cristal (c) et la spore (s) (Lacoursière J.O. et Boisvert J., 2004).

Le mécanisme d'action toxique du *Bti* est très spécifique, puisque son efficacité dépend (i) de la solubilisation du cristal d'endotoxines à l'intérieur du tube digestif du moustique (pH alcalin), (ii) de la conversion des protoxines en toxines sous l'action d'enzymes protéolytiques, et (iii) de la fixation des toxines sur des récepteurs membranaires spécifiques. Cette fixation va entraîner la formation de pores membranaires avec comme conséquence la destruction des cellules épithéliales (mécanisme décrit dans la partie II : Propriétés physico-chimiques et évaluation du risque pour l'environnement).

En raison de cette spécificité, le même mécanisme de toxicité n'apparaît pas chez les mammifères, et l'ensemble des données disponibles indique une très faible toxicité chez les mammifères des produits contenant du *Bti*, dans la mesure où ces produits n'ont pas été contaminés par d'autres produits biologiques actifs ou ne contiennent pas d'agents nocifs en tant que co-formulants.

Les  $\delta$ -endotoxines du *Bti* préalablement solubilisées et activées sont toxiques pour les souris quand elles sont administrées par injection sous-cutanée ou intraveineuse et elles détruisent les cellules érythrocytaires humaines en culture (Thomas et Ellar, 1983 dans Lacoursière J.O. et Boisvert J., 2004). Néanmoins, les  $\delta$ -endotoxines ne sont solubilisées qu'en pH alcalin (conditions prévalant dans le pH du tube digestif de certains insectes : pH > 10) (Lacoursière J.O. et Boisvert J., 2004). Ainsi de très nombreuses études chez les mammifères et les oiseaux ont montré l'absence d'effets du *Bti*, en l'absence de solubilisation préalable des  $\delta$ -endotoxines (Meadows, 1983 dans Glare and O'Callaghan, 1998).

Dans cette partie, les propriétés toxicologiques de la substance active et les résultats des études sont présentés afin de pouvoir sélectionner la dose sans effet indésirable observé (DSEIO) la plus pertinente à partir de l'ensemble des résultats expérimentaux présentés. Cette dose de référence ainsi que les facteurs de sécurité dérivés seront ensuite utilisés pour évaluer les risques pour les opérateurs ou les accompagnants et personnes présentes pendant les phases d'application de produit contenant du *Bti* dans les conditions utilisées à la Réunion pour lutter contre le vecteur du virus du Chikungunya, *Aedes albopictus*.

Cette évaluation des effets toxicologiques est une synthèse des documents de revue préalablement rédigés par les organismes officiels. Les rapports primaires d'étude n'ont pas été revus par les rédacteurs de ce document.

Les résultats des études de toxicologie sont présentés au même degré de précision que dans les revues des organismes officiels. Dans la majorité des revues consultées, il manque des informations sur la nature du matériel testé (cellules végétatives, spores,  $\delta$ -endotoxines : proportion entre les différents composants ; impuretés, degré de pureté de l'organisme ; viabilité de l'organisme). Néanmoins, en raison de la quantité des informations fournies concourant à démontrer l'absence d'effets observés et en raison du mécanisme de toxicité spécifique, les résultats de ces études sont considérés suffisamment fiables pour dériver une DSEIO qui pourra être comparée avec un niveau d'exposition au *Bti*, tel qu'il est libéré dans l'environnement à la Réunion dans ses conditions d'utilisation pour la lutte antivectorielle.

## 2 TOXICOCINETIQUE

### **Absorption, distribution et excrétion**

Le *Bacillus thuringiensis* (*Bt* : espèce regroupant plusieurs sous-espèces dont le *Bti*) est éliminé du corps graduellement après exposition par voie orale, par inhalation ou par voie intraveineuse (IPCS INCHEM, 1999). Plusieurs études ont montré que le *Bt* (sans autre précision) est conservé dans le tractus intestinal après administration par voie orale (McClintock *et al.*, 1995 dans IPCS INCHEM, 1999). Après injection de *Bt* (sans autre précision) par voie intra-péritonéale chez la souris, le *Bt* a été détecté dans le sang pendant 8 jours (De Barjac *et al.*, 1980 dans Suffolk County Department of Health Services, 2005).

Dans une étude au cours de laquelle des souris ont reçu du *Bti* par voie intraveineuse, il a été retrouvé dans les poumons, les reins, la lymphe, le sang et le cerveau. La majorité du *Bti* a été éliminée en 57 jours (Harde, 1991 dans Suffolk County Department of Health Services, 2005).

La protéine responsable de l'activité du *Bt* (Cry3Bb1), de structure proche de celle des  $\delta$ -endotoxines du *Bti*, est supposée être rapidement dégradée (EPA, 1998).

La peau humaine est une barrière naturelle aux bactéries. Néanmoins, quelques bactéries sont capables de pénétrer la peau saine. Parmi, celles-ci, les bactéries de la leptospirose et de la brucellose sont fréquemment citées ; le *Bti*, lui, n'est jamais cité parmi les bactéries possédant les propriétés pour pénétrer la peau saine et il est donc très peu probable qu'il puisse pénétrer la peau lors de son utilisation en LAV.

Cependant, on ne connaît pas la nature des co-formulants et leur influence potentiel dans la pénétration cutanée de la substance active. Ainsi, en l'absence de données chiffrées et dans le cadre d'une évaluation préliminaire des risques, comme aucune étude de pénétration cutanée n'est disponible, une valeur de pénétration cutanée par défaut de 100 devrait être appliquée (SANCO, 2004).

### **Métabolisme**

Aucune donnée spécifique concernant l'identification des métabolites après administration de *Bti* n'est disponible.

### 3 TOXICITE AIGUE

La toxicité aiguë du *Bacillus thuringiensis* a été étudiée et les résultats sont présentés ci-après (EPA 1998). Les études dont sont issus ces résultats ont été conduites chez le rat, la souris ou le lapin.

Toxicité aiguë orale / pathogénicité : aucun signe toxique adverse, aucune infectiosité ni pathogénicité n'ont été observées à des doses allant jusqu'à  $4,7 \times 10^{11}$  UFC/kg (UFC : Unité formant des colonies).

Toxicité aiguë pulmonaire / pathogénicité : aucun signe toxique adverse, aucune infectiosité ni pathogénicité n'ont été observées à des doses allant jusqu'à  $2,6 \times 10^7$  UFC/kg.

Toxicité aiguë intra-péritonéale / pathogénicité : non toxique à des doses inférieures à  $10^8$  UFC/animal. Aucune infectiosité ni pathogénicité.

Toxicité aiguë cutanée : aucune toxicité par voie cutanée n'a été rapportée jusqu'à la dose de  $4,7 \times 10^{11}$  UFC (unité non détaillée).

Les résultats présentés ci-dessous ont été obtenus avec l'une des formulations utilisées dans le cadre des campagnes de lutte antivectorielle à la Réunion : VECTOBAC® WG à 3000 UTI/mg (WHO, 2003). Ils confirment l'absence de toxicité aiguë observée en testant le *Bti* seul.

Toxicité aiguë orale :  $DL_{50} > 5000$  mg/kg ;

Toxicité aiguë cutanée :  $DL_{50} > 5000$  mg/kg ;

Toxicité aiguë par inhalation : pas de létalité observée après 4 heures d'exposition à la concentration la plus haute atteignable dans la chambre d'exposition.

#### Informations additionnelles

##### Exposition par inhalation.

Dans une étude de toxicité aiguë par **inhalation**, 10 femelles **souris** Swiss ont été exposées pendant 12 minutes à  $2 \times 10^8$  spores de *Bti* (issues d'une culture de 48 heures) / animal (de Barjac *et al.* 1980 dans IPCS INCHEM, 1999). Les souris ont été observées pendant 15 jours puis sacrifiées. Les poumons ont été prélevés de façon aseptique et mis en culture pour pouvoir observer les bactéries, mais aucun *Bti* n'a été retrouvé.

Dans une étude de toxicité par **inhalation** conduite chez le **rat**, 27 femelles rats Sprague Dawley ont été exposées à  $2 \times 10^6$  spores de *Bti* (issues d'une formulation commerciale) / animal d'une formulation commerciale à base de *Bti* pendant 30 minutes (Siegel *et al.* , 1987 dans IPCS INCHEM, 1999). Les rats ont été sacrifiés de façon séquentielle sur une période de 27 jours et les poumons mis en culture. Les quantités de *Bti* retrouvées ont décliné de  $5,92 \times 10^3$  UFC/g de tissu pulmonaire 3 heures après l'exposition, à une absence de détection 7 jours après l'exposition. Aucune lésion pulmonaire macroscopique n'a été observée.

##### Exposition par voie cutanée.

###### Par contact cutané

Le *Bacillus thuringiensis* n'a aucune toxicité par contact cutané compte tenu de son mode d'action. Ainsi, lors d'une étude menée chez la **souris**,  $5,1 \times 10^7$  UFC de *Bti* ont été appliqués sur la peau de 20 souris femelles Swiss (de Barjac *et al.*, 1980 dans IPCS INCHEM, 1999). Aucune mortalité n'a été observée et aucune inflammation de la peau n'a été mise en évidence. D'autres études revues par McClintock (1995) (dans IPCS INCHEM, 1999) indiquent que le *Bacillus thuringiensis* n'est pas toxique ou pathogène pour les lapins

après exposition cutanée à plusieurs sous-espèces, à des doses allant jusqu'à 2500 mg/kg. Dans quelques cas, une irritation modérée a été observée.

#### *Sur peau scarifiée*

Ces essais permettent d'évaluer à la fois le potentiel toxique et le potentiel d'infectiosité de l'agent microbien. Dans le cas de l'espèce *Bt*, la toxicité est peu probable du fait de son mode d'action. Néanmoins, ce test permet également d'évaluer l'importance de l'intégrité de la peau dans la prévention de l'infection par le *Bt*.

Ainsi, lors d'une étude conduite chez le **lapin**,  $3,3 \times 10^{13}$  UFC d'une formulation commerciale à base de *Bti* ont été appliqués sur la peau de 6 lapins mâles New Zealand White (Barjac *et al.*, 1980 dans IPCS INCHEM, 1999). Aucune inflammation cutanée ni signe d'infection n'ont été observés.

#### *Par inoculation sous-cutanée*

Cette exposition ne peut avoir lieu que si la peau est endommagée lors de l'application par pulvérisation ou est déjà préalablement endommagée pour d'autres raisons.

Lors d'une étude d'inoculation sous-cutanée chez la **souris**,  $10^9$  UFC d'une formulation commerciale de *Bti* ont été inoculés à 15 souris femelles BALB/c (Siegel *et al.*, 1987 dans IPCS INCHEM, 1999). Des abcès ont eu lieu au niveau du site d'injection mais ont été attribués à l'introduction d'une concentration élevée de corps étrangers thermostables. Ces abcès ont également eu lieu lors de l'injection de *Bti* autoclavé. Aucune infection ni mortalité ne furent observées.

#### **Exposition par voie oculaire**

Lors d'une étude conduite chez le **lapin**,  $3,7 \times 10^7$  UFC d'une culture de 48 h de *Bti* ont été inoculés dans les yeux de 6 lapins mâles New Zealand White (de Barjac *et al.*, 1980 dans IPCS INCHEM, 1999). Aucune conjonctivite ni irritation oculaire n'ont été observées.

Lors d'une étude conduite chez le **lapin**, 50 mg d'une formulation commerciale à base de *Bti* sous forme de poudre ont été inoculés dans les yeux de 6 lapins mâles New Zealand White durant **9 jours**, tandis que 50 mg d'une culture de *Bti* étaient inoculés dans les yeux de 6 autres lapins mâles New Zealand White (Siegel *et al.*, 1987 dans IPCS INCHEM, 1999). Aucune conjonctivite ni irritation oculaire n'ont été observées chez les lapins ayant reçu la poudre commerciale. Les lapins ayant reçu la culture de *Bti* ont montré de sévères congestions conjonctivales et des écoulements. Ces effets ont été attribués aux caractéristiques physiques de l'inoculum plus qu'au *Bti* lui-même : la souche du laboratoire se présentait sous la forme d'une pâte sèche avec des blocs durs, alors que la formulation commerciale était une poudre molle.

## **4 TOLERANCE LOCALE**

En général, une irritation faible à modérée a été observée occasionnellement dans les essais conduits avec des formulations contenant du *Bti*. Ces irritations observées pourraient être attribuées aux co-formulants des formulations étudiées ; une irritation des yeux a été observée occasionnellement en testant le même type de produits (EPA 1998).

Les résultats présentés ci-dessous ont été obtenus avec l'une des formulations utilisées dans le cadre des campagnes de lutte antivectorielle à la Réunion : VECTOBAC® WG à 3000 UTI/mg (WHO, 2003). Ils confirment l'absence d'effets significatifs sur la peau et les

yeux, mais l'occurrence d'effets légers pouvant être liés aux co-formulants ou à la forme sous laquelle le *Bti* a été incorporé dans la formulation :

- Irritation pour la peau : Le VECTOBAC® WG est faiblement irritant pour la peau et de façon transitoire.
- Irritation pour les yeux : Le VECTOBAC® WG est faiblement irritant pour les yeux ; les signes observés (rougeur et irritation de la conjonctive) ont été transitoires.
- Sensibilisation pour la peau : Le VECTOBAC® WG n'a pas été trouvé sensibilisant.

## 5 TOXICITE SUBCHRONIQUE

Dans une étude de toxicité par voie **orale** menée sur **21 jours**, des **rats** (Wistar) et des **souris** (Swiss) femelles ont reçu des doses répétées de *Bti* cultivés en laboratoire,  $1,2 \cdot 10^{11}$  et  $4,7 \cdot 10^{10}$  UFC respectivement. Aucune mortalité n'a été observée et un gain de poids normal a été rapporté chez tous les rongeurs traités (de Barjac *et al.* 1980).

D'autres études subchroniques ont été conduites chez des mammifères. Chez le **rat**, aucune toxicité ni infectiosité n'ont été observées lors de l'administration de *Bacillus thuringiensis israelensis* dans la nourriture à la dose de **4 g/kg pc/j** pendant **3 mois** (McClintock *et al.* 1995).

## 6 MUTAGENESE

Dans un test d'Ames, réalisé sur les endotoxines  $\delta$  de *Bti*, il a été conclu que les protéines du cristal étaient non mutagènes (PSD, 1992) : pas d'augmentation du nombre de révertants sur les souches testées (*Salmonella typhimurium* TA98 ou TA100) en présence ou en absence d'activation métabolique (Carlberg *et al.*, 1995 - Abstract).

## 7 ETUDES CHRONIQUES ET ONCOGENICITE

### 7.1 ETUDE COMBINEE TOXICITE CHRONIQUE/CANCEROGENICITE CHEZ LE RAT

Aucune donnée n'est disponible sur *Bacillus thuringiensis israelensis*.

McClintock *et al.* (1995) (dans IPCS INCHEM, 1999) ont rapporté les résultats d'une étude de **2 ans** dans laquelle une formulation commerciale contenant des *Bacillus thuringiensis kurstaki* a été administrée en mélange à la nourriture à des **rats** à la dose de 8400 mg/kg pc/j. En dépit d'une dose excessive, le seul effet observé a été une diminution du poids corporel des femelles entre les semaines 10 et 104 de l'étude et aucune tumeur liée au traitement n'a été décrite.

### 7.2 ETUDE COMBINEE TOXICITE CHRONIQUE/CANCEROGENICITE CHEZ LA SOURIS

Aucune donnée n'est disponible.

---

## 8 DEVELOPPEMENT ET REPRODUCTION

---

### 8.1 TOXICITE DE LA REPRODUCTION

---

Lors d'une étude 2-génération réalisée sur **souris** avec des spores de *Bti*, aucun effet significatif sur la mortalité maternelle, sur la fertilité ou le nombre de portées n'a été montré (PSD, 1992).

---

### 8.2 TERATOGENICITE

---

Aucune donnée disponible.

---

## 9 ETUDES DE NEUROTOXICITE

---

Aucune donnée disponible.

---

## 10 EFFETS SUR LA SANTE HUMAINE

---

Plusieurs paramètres qui permettent aux toxines du *Bti* d'agir, dont le pH alcalin au niveau du tractus intestinal de l'insecte, ne sont pas présents chez l'homme. Les cas avérés de signe clinique causé par une bactérie de l'espèce *Bt* sont extrêmement rares et après une revue des données disponibles, il peut être conclu que les risques pour la santé humaine liés au *Bti* sont extrêmement faibles (Drobniewski, 1994 dans IPCS INCHEM, 1999).

Dans un cas, un étudiant anglais s'est accidentellement injecté dans la main une suspension très concentrée de *Bti* ( $6 \times 10^8$  spores/ml) contaminée par une autre bactérie, *Acinetobacter calcoaceticus anitratus* (Warren *et al.*, 1984 dans IPCS INCHEM, 1999). Cette infection a donné lieu à une lymphangite (inflammation des vaisseaux lymphatiques). Cependant la présence de ces deux microorganismes dans la plaie rendit l'interprétation difficile et les auteurs conclurent que la bactérie *Acinetobacter* aurait probablement joué le rôle majeur. Les protéases de *A. calcoaceticus* auraient pu provoquer une activation des toxines de *Bti*, situation jugée exceptionnelle par Drobniewski (1994) (dans Chevalier P. *et al.*, 2002). Un traitement antibiotique a permis de réprimer complètement l'infection en quelques jours et l'étudiant fut rétabli 5 jours plus tard.

---

## 11 SELECTION DE LA DSEIO ET DES FACTEURS DE SECURITE POUR L'EVALUATION DES RISQUES POUR LES OPERATEURS OU LES ACCOMPAGNANTS ET PERSONNES PRESENTES

---

---

### 11.1 SELECTION DE LA DSEIO LA PLUS PERTINENTE

---

Toutes les études décrites montrent globalement une absence de toxicité du *Bti* pour les mammifères mais peu d'études ont été conduites pour évaluer la toxicité du *Bti* par administration répétée.

On estime que les opérateurs peuvent être exposés plusieurs jours par semaine pendant plusieurs semaines, voire quelques mois, en cas de lutte contre les vecteurs de propagation d'une épidémie. Les résultats obtenus lors des études de toxicité sub-chronique sont donc les études considérées les plus pertinentes.

La plus pertinente des études pour dériver la dose sans effet indésirable observé (DSEIO) à utiliser pour l'évaluation des risques pour les opérateurs est l'étude rapportée par McClintock *et al.* 1995 qui a été conduite chez le rat pendant 3 mois. Dans cette étude, aucune toxicité ni infectiosité n'ont été observées lors de l'administration de *Bacillus thuringiensis israelensis* dans la nourriture à la dose de 4000 mg/kg/j (McClintock *et al.* 1995).

## 11.2 SELECTION DES FACTEURS DE SECURITE LES PLUS PERTINENTS

Tableau IV.1 : Facteurs de sécurité pour le calcul des marges de sécurité

Facteurs de sécurité	Valeur
Inter-espèce	10 Pas d'étude disponible chez l'homme.
Intra-espèce	5 (Les travailleurs sont considérés comme constituant une population plus homogène que le Grand Public. Bien qu'il n'y ait pas d'indication qu'une partie de la population soit plus sensible qu'une autre au <i>Bti</i> , un facteur de 10 peut être utilisé pour la personne présente)
Durée d'exposition	5 (La DSEIO a été dérivée à partir d'une étude de 90 jours, qui est supposée correspondre à une période maximale d'application, mais cette durée pourrait être exceptionnellement excédée dans le cas d'une lutte particulièrement longue contre les vecteurs de propagation d'une épidémie)
Extrapolation d'une voie à une autre	1 (pris en compte par l'absorption cutanée)
Qualité de la base de données	1 (peu d'études réalisées et seuls les résumés étaient disponibles, mais l'ensemble des résultats indique l'absence de toxicité de la substance active)
Marge de sécurité de référence	250

## 12 CONCLUSION GENERALE SUR LA TOXICITE DE LA MATIERE ACTIVE

Le *Bti*, tel qu'il est contenu dans les formulations utilisées dans la lutte antivectorielle, est présent sous forme de spore et de cristal d'endotoxines. Ce cristal devra être solubilisé et se fixer à des récepteurs membranaires de l'insecte pour entraîner l'effet toxique.

En raison de sa spécificité d'action, le *Bti* ne démontre pas de toxicité lorsqu'il fait l'objet d'essais de toxicologie sur mammifères.

Les tests de toxicité aiguë n'ont montré aucun signe de toxicité liée à l'administration de *Bti*. Des légères irritations de la peau et des yeux ont été observées lors de la conduite d'essais avec des produits contenant du *Bti*, sans qu'il n'ait été clairement établi si c'était le *Bti* ou les co-formulants utilisés dans les produits qui étaient responsables de ces effets.

Les résultats de mutagénicité, de toxicité pour la reproduction et de cancérogénicité sont peu nombreux mais ces résultats ont été négatifs et, de part sa nature et son mode d'action, le *Bti* n'est pas suspecté de pouvoir entraîner ce type d'effets.

La valeur de la DSEIO la plus pertinente pour évaluer les risques pour les opérateurs ou les accompagnants et personnes présentes a été établie à 4000 mg/kg pc/j (étude de 90 jours sur rat par voie orale) et la marge de sécurité à 250.

---

## LISTE DES REFERENCES

**Partie I:** Liste des revues issues des organismes officiels et utilisées pour la constitution de ce document :

- Chevalier P. *et al.* (2002) Larvicides pour contrer la transmission du virus du Nil occidental chez les humains. Rapport final – Mars 2002.
- EPA (1998) Reregistration Eligibility Decision (RED) *Bacillus thuringiensis*. March 1998.
- Glare T R and O’Callaghan M (2005) A review and update of the report “Environmental and health impacts of *Bacillus thuringiensis israelensis*” – Report for New-Zealand Ministry of Health.
- IPCS INCHEM (1999) Microbial Pest Control Agent. Environmental health criteria for *Bacillus thuringiensis* (217).
- Lacoursière J.O. et Boisvert J. (2004) Le *Bacillus thuringiensis israelensis* et le contrôle des insectes piqueurs au Québec, Envirodoq : ENV/2004/0278, sur <http://www.mddep.gouv.qc.ca/pesticides/virus-nil/bti/index.htm#resume>
- PSD (1992) Advisory Committee on Pesticides. Evaluation on: *Bti* (2). Issue No. 105.
- Suffolk County Department of Health Services (2005) Suffolk County Vector Control and Wetlands Management Long-Term Plan - Task 3 -Book 6 Part 1: Human Health & Domestic Animal Toxicity - Literature Review - March 2005.
- WHO (2003) Report of the seventh Whopes Working Group meeting. December 2003.

**Partie II:** liste des références primaires des études citées dans ce document :

- Carlberg G, Tikkanen L, Abdel-Hameed AHA. (1995). Safety testing of *Bacillus thuringiensis* preparation, including *Thuringiensis*, using the salmonella assay. *J. invertebr. Pathol.*, 66 : 68-71.
- de Barjac H, Larget I, Bénichou L, Cosmao V, Viviani G, Ripouteau H, & Papion S (1980) Test d'innocuité sur mammifères avec du sérotype H 14 de *Bacillus thuringiensis*. Geneva, World Health Organization (WHO/VBC/80.761).
- Drobniwski FA (1993) *Bacillus cereus* and related species. *Clin. Microbiol. Rev.*, 6: 324-338.
- Drobniwski FA (1994). The safety of *Bacillus* species as insect vector control agents. *Journal of Applied Bacteriology*, 76: 101-109.
- Harde, T. 1991. *Bacillus thuringiensis var. israelensis acute intravenous toxicity/pathogenicity study in rats given Bti Batch BIF 61. Project I.D. No. 90070.* Unpublished study prepared by Novo Nordisk A/S. EPA MRID No. 419801-04C. 1991.

- 
- McClintock JT, Schaffer CR, & Sjoblad RD (1995) A comparative review of the mammalian toxicity of *Bacillus thuringiensis*-based pesticides. *Pestic Sci*, 45: 95-105.
  - Meadows, M. P. 1993. *Bacillus thuringiensis* in the environment: ecology and risk assessment. pp. 193-220. Dans *Bacillus thuringiensis*, an environmental biopesticide: theory and practice. P. F. Entwistle, J. S. Cory, M. J. Bailey et S. Higgs (Eds.), John Wiley & Sons Ltd.
  - SANCO (2004) Sanco/222/2000 rev.7 Guidance document on dermal absorption. European Commission Health and Consumer Protection Directorate-General. 19 March 2004.
  - Siegel JP, Shaddock JA, & Szabo J (1987) Safety of the entomopathogen *Bacillus thuringiensis* var. *israelensis* for mammals. *J Econ Entomol*, 80: 717-723.
  - Thomas, W. E. et D. J. Ellar. 1983. *Bacillus thuringiensis* var. *israelensis* crystalendotoxin: effects on insect and mammalian cells in vitro and in vivo. *Journal of Cell Science*. 60 : 181-198.
  - Warren RE, Rubenstein D, Ellar DJ, Kramer JM, & Gilbert RJ (1984) *Bacillus thuringiensis* var. *israelensis*: Protoxin activation and safety. *Lancet*: March 24: 678–679.

Annexe 1. NOAEL et LOAEL – Etudes chez l'animal sur le *Bti*

Voie	Durée	Espèce	NOAEL	LOAEL	Organe/Effet	Commentaires	Référence
<b>Toxicité aigue</b>							
Inhalation	12 min	souris (f)	2 x 10 <sup>8</sup> spores	-	DL <sub>50</sub>	Aucune mortalité ni de <i>Bti</i> dans les poumons	Barjac <i>et al.</i> 1980
Inhalation	30 min	rat (f)	2 x 10 <sup>6</sup> spores	-	DL <sub>50</sub>	Absence de détection 7 jours après. Aucune lésion pulmonaire macroscopique	Siegel <i>et al.</i> 1987
Cutanée (contact)	unique	souris (f)	5,1 x 10 <sup>7</sup> UFC	-	DL <sub>50</sub>	Aucune mortalité ni inflammation de la peau	Barjac <i>et al.</i> 1980
Cutanée (scarifiée)	unique	lapin (m)	3,3 x 10 <sup>13</sup> UFC	-	DL <sub>50</sub>	Aucune inflammation de la peau ou signe d'infection	Barjac <i>et al.</i> 1980
Sous-cutanée	unique	souris (f)	10 <sup>9</sup> UFC	-	DL <sub>50</sub>	Abcès au niveau du site d'injection lié à l'introduction d'une concentration élevée de corps étrangers thermostables.	Siegel <i>et al.</i> 1987
Oculaire	unique	lapin (m)	3,7 x 10 <sup>7</sup> UFC	-	Irritation et conjonctivite	Aucune irritation ou conjonctivite.	Siegel <i>et al.</i> 1987
Oculaire	unique	lapin (m)	3,7 x 10 <sup>7</sup> UFC	-	Irritation et conjonctivite	Aucune irritation ou conjonctivite.	Siegel <i>et al.</i> 1987

Voie	Durée	Espèces	NOAEL	LOAEL	Organe/Effet	Commentaires	Référence
<b>Toxicité Subchronique</b>							
orale	21 jours	rat	1,2 10 <sup>11</sup> UFC	-	Signes cliniques	Pas de mortalité. Gain de poids normal.	de Barjac <i>et al.</i> 1980
orale	21 jours	souris	4,7 10 <sup>10</sup> UFC	-	Signes cliniques	Pas de mortalité. Gain de poids normal.	de Barjac <i>et al.</i> 1980
Orale	3 mois	rat	4000 mg/kg/jour	-	Signes cliniques	-	McClintock 1994
<b>Toxicité chronique</b>							
Orale	2 ans	rat	8400 mg <i>Btk</i> /kg pc/jour	-	-	Diminution du poids corporel des femelles entre semaines 10 et 104.	McClintock 1994

Voie	Durée	Espèces	NOAEL	LOAEL	Organe/Effet	Commentaires	Référence
<b>Tératogénicité/Toxicité de la reproduction</b>							
orale	2 générations	souris	-	-	-	Aucun effet sur la mortalité maternelle, la fertilité ou le nombre de portées	PSD 1992



CEHTRA  
43 rue Laroque  
33560 Sainte Eulalie  
France

Tel (33) 5 57 77 56 10  
Fax (33) 5 57 77 56 20  
[www.cehtra.fr](http://www.cehtra.fr)

## ***Bacillus thuringiensis israelensis (Bti)***

### **V- Evaluation de l'exposition et du risque pour l'homme**

**DATE**

**Juillet 2007**

## TABLE DES MATIÈRES

<b>Introduction .....</b>	<b>279</b>
<b>1. granule dispersible-Scenario 1 : Pulvérisateur manuel à pression préalable (5 L) .....</b>	<b>282</b>
1.1. evaluation selon le Scenario 1 .....	282
1.2. Conclusion pour le pulvérisateur manuel à pression préalable .....	283
<b>2. granule dispersible-Scénario 2 : pulvérisateur à jets portés monté sur un Quad ou un vehicule à chenilles sans cabine .....</b>	<b>284</b>
2.1. evaluation selon le Scenario 2 .....	284
2.2. Conclusion pour l'application pneumatique.....	285
<b>3. granule dispersible-Scénario 3 : Pulvérisateur à jets projetés (lance) monté sur un pick-up à 4 roues motrices .....</b>	<b>286</b>
3.1. evaluation selon le Scenario 3 .....	286
3.2. Conclusion pour le granule dispersible-scénario 3 .....	287
<b>4. granule dispersible-Scenario 4 : Exposition de l'accompagnant et de la personne présente .....</b>	<b>288</b>
4.1. Pulvérisateur manuel à pression préalable (5 l).....	288
4.2. Pulvérisateur pneumatique à partir d'un Quad ou d'un véhicule à chenilles sans cabine .....	289
4.3. Pulvérisateur à jets projetés monté sur un pick-up à 4 roues motrices .....	290
<b>5. granule-Scenario 1 : application à la main .....</b>	<b>292</b>
5.1. evaluation selon le Scenario 1 .....	292
5.1.1. Modèle jardin	292
5.1.2. Calcul basé sur la contamination des mains seulement	293
5.2. Conclusion pour le granule-scénario 1 .....	294
<b>6. granule-Scenario 2 : Application avec un petit appareil manuel .....</b>	<b>295</b>
6.1. evaluation selon le Scenario 2 .....	295
6.2. Conclusion pour le granule-scénario 2 .....	296
<b>7. granule-Scenario 3 : Exposition de l'accompagnant et de la personne présente.....</b>	<b>297</b>
<b>8. Conclusion générale .....</b>	<b>298</b>

---

<b>ANNEXE I : granule dispersible-Scénario 1: Pulvérisateur à pression préalable (POEM).....</b>	<b>300</b>
<b>ANNEXE II : granule dispersible-Scénario 1: Pulvérisateur à pression préalable (mod. BBA) .....</b>	<b>301</b>
<b>ANNEXE III : granule dispersible-pulvérisateur à jets portés monté sur un Quad ou un véhicule à chenilles sans cabine (POEM) .....</b>	<b>302</b>
<b>ANNEXE IV : granule dispersible-pulvérisateur à jets portés monté sur un Quad ou un véhicule à chenilles sans cabine (modèle BBA).....</b>	<b>303</b>
<b>ANNEXE V : granule dispersible-pulvérisateur à jets portés monté sur un Quad ou un véhicule à chenilles sans cabine (modèle PHED).....</b>	<b>304</b>
<b>ANNEXE V : granule dispersible-pulvérisateur à jets portés monté sur un Quad ou un véhicule à chenilles sans cabine (modèle PHED) - suite .....</b>	<b>305</b>
<b>ANNEXE VI : granule dispersible-Pulvérisateur à jets projetés (lance) monté sur un pick-up à 4 roues motrices (PHED) .....</b>	<b>306</b>
<b>Annexe VII : granule dispersible-Pulvérisateur à jets projetés (lance) monté sur un pick-up à 4 roues motrices (EUROPOEM).....</b>	<b>307</b>
<b>ANNEXE VIII : Modèle jardin – Présentation de l'étude .....</b>	<b>308</b>

## INTRODUCTION

Le mécanisme d'action toxique du *Bti* est très spécifique, puisque son efficacité dépend de la solubilisation du cristal d'endotoxines à l'intérieur du tube digestif de la larve de moustique, de la conversion des protoxines en toxines sous l'action des enzymes protéolytiques et de la fixation des toxines aux récepteurs membranaires entraînant la formation de pores membranaires puis la destruction des cellules épithéliales membranaires. En raison de cette spécificité, le même mécanisme de toxicité n'apparaît pas chez les mammifères, et l'ensemble des données disponibles indique une très faible toxicité chez les mammifères des produits contenant du *Bti*, dans la mesure où ces produits n'ont pas été contaminés par d'autres produits biologiques actifs ni ne contiennent d'agents nocifs en tant que co-formulants.

En dépit de l'absence de toxicité observée du *Bti* et de l'absence de préoccupation attendue en fonction de sa spécificité d'action, une évaluation simplifiée des risques pour l'opérateur a été conduite.

Dans cette section, l'évaluation préliminaire des risques liés à l'utilisation du *Bti* sous forme de granulés (appliqués sous cette forme) ou de granulés dispersibles dans l'eau (appliqués sous forme de solution) est présentée pour les opérateurs ou les accompagnants et personnes présentes dans les conditions d'utilisation à la Réunion pour lutter contre le vecteur du virus du Chikungunya, *Aedes albopictus*.

La valeur de la DSEIO (Dose Sans Effet Indésirable Observé) la plus pertinente pour évaluer les risques pour les opérateurs ou les accompagnants et personnes présentes a été établie à 4000 mg/kg pc/j (étude de 90 jours sur rat par voie orale) et la marge de sécurité à 250.

Le *Bti* est appliqué pour contrôler les larves de moustiques. Le *Bti* est utilisé sous la forme :

- de granulés : VECTOBAC® G à 15 kg de formulation par hectare,
- de granulés dispersibles dans l'eau : VECTOBAC® WG à 1 kg de formulation par hectare.

La formulation VECTOBAC® WG étant 15 fois plus concentrée en *Bti* que la formulation VECTOBAC® G, la quantité de *Bti* appliquée par hectare est la même que l'on utilise l'une ou l'autre des formulations, à savoir 420 g de substance active par hectare.

Les modes d'application seront différents en fonction de la préparation sélectionnée pour traiter les gîtes larvaires, l'ensemble de ces modes sera évalué.

L'équipement d'application utilisé pour les solutions liquides préparées à base de granulés dispersibles (VECTOBAC® WG) est similaire à celui utilisé pour des applications de produits phytopharmaceutiques ; il peut être :

- un pulvérisateur manuel à pression préalable,
- un pulvérisateur à jets portés monté sur un véhicule,
- un pulvérisateur à jets projetés (lance) monté sur un véhicule.

Les modèles suivants seront utilisés pour les solutions liquides à base de granulés dispersibles :

### UK POEM :

Ce modèle est construit sur la base d'études conduites au Royaume-Uni au début des années 80. Il s'agissait surtout d'études non BPL et les données brutes ne sont plus disponibles. Ce modèle est considéré comme étant très conservateur. Cependant, comme il est reconnu en Europe, les résultats issus de ce modèle seront présentés quand nécessaire

pour l'un ou l'autre usage. Les paramètres d'entrée et les chiffres génériques sont détaillés à l'adresse suivante :

[http://www.pesticides.gov.uk/uploadedfiles/Web\\_Assets/PSD/UK\\_POEM1.xls](http://www.pesticides.gov.uk/uploadedfiles/Web_Assets/PSD/UK_POEM1.xls)

#### **Modèle BBA :**

Ce modèle est construit sur la base d'études conduites en Allemagne dans les années 80. Il s'agissait principalement d'études non BPL, mais les données brutes sont toujours disponibles. Ce modèle est considéré comme étant assez conservateur, mais généralement moins que le modèle UK POEM. Cependant, comme il est reconnu en Europe, les résultats issus de ce modèle seront présentés quand nécessaire pour l'un ou l'autre usage. Les paramètres d'entrée et les chiffres génériques sont détaillés à l'adresse suivante :

[http://www.pesticides.gov.uk/uploadedfiles/Web\\_Assets/PSD/German\\_Model\\_PSD1.xls](http://www.pesticides.gov.uk/uploadedfiles/Web_Assets/PSD/German_Model_PSD1.xls)

#### **EUROPOEM II :**

Ce modèle a été construit par une équipe d'universitaires, de régulateurs et d'industriels sous le couvert d'un contrat européen. Ce modèle comprend les résultats de 78 études qui étaient alors disponibles pour le groupe de travail. Les résultats, tels que présentés à la fin du contrat, ont été considérés par la Commission comme trop variables pour pouvoir être aisément utilisables par les réglementaires. Cependant, ces données sont disponibles à l'adresse suivante : <http://europoem.csl.gov.uk> et elles sont très utiles pour affiner des résultats ou quand c'est la seule source de données d'exposition pour un usage donné.

#### **PHED V 1.1 février 1995 :**

Ce modèle a été construit par les agences réglementaires et l'industrie nord-américaines. Ce modèle comprend environ 1800 répétitions pour des types d'usages très variés. Ce modèle est actuellement utilisé en Amérique du Nord et certains des usages modélisés peuvent être utilisés dans d'autres pays. En Annexes V et VI sont précisés les paramètres d'entrée, ainsi que le type d'équipement de protection pour chaque scénario.

Le type d'équipement d'application qui peut être utilisé pour les applications de granulés est limité : il s'agit de petits appareils portés qui dispersent les granulés de façon plus ou moins homogène. Ces équipements d'application sont peu utilisés pour appliquer les produits phytopharmaceutiques, à l'exception des engrais/désherbants sélectifs sur gazon. Les applications manuelles seront aussi envisagées.

Les modèles suivants seront utilisés pour les granulés :

#### **Modèle expo jardin v3\_4 :**

Ce modèle a été réalisé par l'UPJ (Union des entreprises pour la Protection des Jardins et Espaces Verts) à partir de mesures d'exposition sur des opérateurs lors de l'application de formulations phytopharmaceutiques par des jardiniers amateurs. Ce modèle a été validé en novembre 2005 par la Commission d'étude de la Toxicité des produits antiparasitaires à usage agricole et des produits assimilés. Il appartient à l'UPJ et à ses sociétaires. Un accès a été donné à l'AFSSET pour l'évaluation de ce dossier. Un des scénarios de ce modèle semble pertinent pour cette évaluation : application de granulés engrais/désherbant à la main sur pelouse. Un descriptif de l'étude sur laquelle est basée le modèle est joint en Annexe VIII.

#### **PHED V 1.1 février 1995 :**

Ce modèle a été construit par les agences réglementaires et l'industrie nord-américaines. Ce modèle comprend environ 1800 répétitions pour des types d'usages très variés. Ce modèle est actuellement utilisé en Amérique du Nord et certains des usages modélisés peuvent être utilisés dans d'autres pays.

Il contient 60 mesures d'exposition pour des applications de granulés par petits appareils portés (scénario « Solid Broadcast Spreaders »), qui sont pertinents pour les applications de granules par appareils portés. Ces données ont été reprises par le PSD de façon à évaluer l'exposition lors de l'application de granulés. Les paramètres d'entrée et les chiffres génériques sont détaillés à l'adresse suivante pour les applications avec tracteur :

[http://www.pesticides.gov.uk/applicant\\_guide.asp?id=1246#section95](http://www.pesticides.gov.uk/applicant_guide.asp?id=1246#section95).

Pour les applications manuelles, la feuille de calcul n'est plus accessible sur Internet.

## 1 GRANULE DISPERSIBLE-SCENARIO 1 : PULVERISATEUR MANUEL A PRESSION PREALABLE (5 L)

### 1.1 EVALUATION SELON LE SCENARIO 1

Il n'existe pas de modèle public pour ce scénario. Une évaluation peut néanmoins être conduite en utilisant les modèles POEM et BBA et en assimilant le pulvérisateur à pression préalable à un pulvérisateur à dos. Le volume de 15 L est réduit à 5 L dans les calculs.

Remarque : Dans le modèle POEM présent sur le site du PSD, la modalité qui a été ajoutée concernant les pulvérisateurs pour jardiniers amateurs (« Home garden sprayer (5 litre tank), Outdoor, low level target) » est une adaptation à partir des données initiales mesurées avec un pulvérisateur à dos. Les modifications consistent à réduire le volume du pulvérisateur de 15 à 5 L et à considérer que l'applicateur n'est pas protégé (qu'il porte un short et un T-shirt). Cette deuxième modification n'est pas adaptée à l'application du *Bti* par des professionnels. C'est pourquoi la modalité « Home garden sprayer » n'a pas été utilisée.

#### Paramètres d'application considérés:

Taux d'application maximum : 420 g s.a. /ha

Volume d'application : 15 L/ha (qui correspond à un traitement par tâches)

Volume (estimé) du pulvérisateur : 5 L

Vitesse : 2-3 km/h

Surface traitée par jour : 3 ha

Quantité de s.a. manipulée par jour : 1,260 kg

L'évaluation du risque est donc conduite ci-dessous selon les modèles POEM et BBA. Un poids corporel de 60 kg a été considéré pour les 2 modèles.

Tableau V.1 : Scénario 1 - Evaluation selon les modèles UK POEM et BBA (détails en Annexes I et II)

	POEM				BBA			
	Exposition	Absorbé		MOS	Exposition	Absorbé		MOS
	(mg/j)	(mg/j)	(mg/kg pc/j)		(mg/j)	(mg/j)	(mg/kg pc/j)	
<i>Exposition cutanée</i>								
Sans protection	2596	2596			77,36	77,36		
Gants mélange/chargement	2382	2382			51,17	51,17		
Gants mélange/chargement & Application	1157	1157			37,94	37,94		
<i>Inhalation</i>								
Mélange/chargement	0,07913	0,07913			0,0252	0,0252		
Application	2,800	2,800			0,378	0,378		
Total	2,879	2,879			0,4032	0,4032		
<b>Total (cutané+ inhalation)</b>								
Sans protection	2599	2599	43,31	<b>92</b>	77,77	77,77	1,296	<b>3086</b>
Gants mélange/chargement	2385	2385	39,75	<b>101</b>	51,57	51,57	0,8595	<b>4654</b>
Gants mélange/chargement & Application	1160	1160	19,33	<b>207</b>	38,35	38,35	0,6391	<b>6259</b>

---

- pas d'inhalation mesurée selon POEM pendant le mélange/chargement

---

## **1.2 CONCLUSION POUR LE PULVERISATEUR MANUEL A PRESSION PREALABLE**

---

Il n'existe pas à ce jour de modèle d'évaluation public avec un pulvérisateur à pression préalable. Le pulvérisateur à dos est sans aucun doute l'équipement d'application le plus proche.

Ce modèle est pénalisant parce que la contamination au niveau du contact entre le pulvérisateur à dos et le corps est élevée, alors qu'elle n'existe pas pour le pulvérisateur à pression préalable. Ces approximations donnent donc une idée conservatrice du niveau d'exposition.

Le risque est acceptable selon le modèle BBA puisque la marge de sécurité est égale à 3086 même si l'opérateur ne porte pas d'équipement de protection individuelle.

Selon le modèle POEM, le risque est presque acceptable si l'opérateur porte des gants pendant le mélange/chargement et l'application ; la MOS est alors égale à 207 (la MOS de référence a été définie à 250). A noter que ce modèle n'est pas bien adapté parce qu'il utilise des données générées avec un pulvérisateur à dos, connues pour être pénalisantes parce que le pulvérisateur à dos est en contact avec le dos de la personne et que les risques de fuite à cet endroit ne sont pas rares. Ce risque n'existe pas avec un pulvérisateur à pression préalable et le modèle de calcul d'exposition utilisé est donc très conservateur.

## 2 GRANULE DISPERSIBLE-SCENARIO 2 : PULVERISATEUR A JETS PORTES MONTE SUR UN QUAD OU UN VEHICULE A CHENILLES SANS CABINE

### 2.1 EVALUATION SELON LE SCENARIO 2

Il n'existe pas de modèle public disponible pour ces usages. L'équipement utilisé en verger (pulvérisateur pneumatique) est le plus proche des équipements du scénario 2. Les données génériques des modèles POEM et BBA qui correspondent aux applications pneumatiques seront donc ici utilisées pour évaluer l'exposition.

Comme le matériel utilisé pour générer les données du modèle était significativement plus gros que celui qui nous intéresse ici, le modèle ne sera peut-être pas suffisamment conservateur.

#### Paramètres d'application considérés:

Taux d'application maximum : 420 g s.a. /ha

Volume d'application : 2,5 à 3,5 L/ha

Volume (estimé) de la cuve : 50 L

Vitesse : 6-8 km/h

Surface traitée par jour : 20 ha

Quantité de s.a. manipulée par jour : 8,4 kg

L'évaluation du risque est donc conduite ci-dessous selon les modèles POEM, BBA et PHED. Un poids corporel de 60 kg a été considéré pour les 3 modèles.

Tableau V.2 : Scénario 2 - Evaluation selon les modèles UK POEM et BBA (détails en Annexes III et IV)

	POEM				BBA			
	Exposition	Absorbé		MOS	Exposition	Absorbé		MOS
	(mg/j)	(mg/j)	(mg/kg pc/j)		(mg/j)	(mg/j)	(mg/kg pc/j)	
<i>Exposition cutanée</i>								
Sans protection	5440,8	5440,8			113,4	113,4		
Gants mélange/chargement	5393,3	5393,3			96,768	96,768		
Gants mélange/chargement & Application	3578,9	3578,9			90,948	90,948		
<i>Inhalation</i>								
Mélange/chargement	2,0328	2,0328			0,0672	0,0672		
Application	20,16	20,16			0,1512	0,1512		
Total	22,19	22,19			0,2184	0,2184		
<b>Total (cutané+ inhalation)</b>								
Sans protection	5463	5463	91,05	<b>44</b>	113,62	113,62	1,894	<b>2112</b>
Gants mélange/chargement	5415	5415	90,26	<b>44</b>	96,986	96,986	1,616	<b>2475</b>
Gants mélange/chargement & Application	3601	3601	60,02	<b>67</b>	91,17	91,17	1,519	<b>2633</b>

Tableau V.3 : Scénario 2 - Evaluation selon le modèle PHED (détails en Annexe V)

	PHED				MOS
	Exposition	Absorbé			
	(mg/kg s.a.)	(mg/kg s.a.)	(mg/j)	(mg/kg pc/j) *	
<i>Exposition cutanée mélange/chargement</i>					
Sans protection	9,5667	9,5667	80,36	1,339	
Gants	0,0575	0,0575	0,4830	0,008050	
<i>Exposition cutanée application</i>					
Sans protection	0,8949	0,9	7,517	0,1253	
Gants	0,6634	0,6634	5,573	0,09288	
<i>Exposition cutanée M/C et application</i>					
Sans protection	10,4616	10,462	87,88	1,465	
Gants M/C	0,9524	0,952	8,000	0,1333	
Gants mélange/chargement & Application	0,7209	0,721	6,056	0,1009	
<i>Inhalation</i>					
Mélange/chargement	0,0004	0,0004	0,003360	0,00005600	
Application	0,00671	0,00671	0,05636	0,0009394	
Total	0,00711	0,00711	0,05972	0,0009954	
<b>Total (cutané+ inhalation)</b>					
Sans protection	10,469	10,469	87,94	1,466	<b>2729</b>
Gants mélange/chargement	0,9595	0,960	8,060	0,1343	<b>29777</b>
Gants mélange/chargement & Application	0,7280	0,728	6,115	0,1019	<b>39246</b>

\* pour une personne de 60 kg

## 2.2 CONCLUSION POUR L'APPLICATION PNEUMATIQUE

Il n'existe pas actuellement de modèle public d'évaluation de l'exposition lors de l'utilisation de petits appareils pneumatiques sans cabine.

L'équipement d'application à jets portés employé en verger est sans doute le modèle le plus proche parce que dans les 2 cas la pulvérisation est pneumatique. Cependant, des différences existent entre le matériel pneumatique usuel en verger et celui proposé pour l'application de *Bti*:

- L'appareillage pour appliquer le *Bti* est beaucoup plus petit que celui utilisé dans le modèle, ce qui pourrait sous-estimer l'exposition.
- L'appareillage utilisé pour appliquer le *Bti* est beaucoup plus dirigé que celui utilisé habituellement en verger, ce qui pourrait surestimer l'exposition.

Le risque est acceptable pour ce scénario selon les modèles BBA et PHED, avec des marges de sécurité élevées, même sans équipement de protection (MOS de 2112 et 2729 respectivement). Selon le modèle POEM, la MOS n'est pas suffisante (67) si l'opérateur porte des gants. Nous rappelons que les études qui ont servi à construire ce modèle ne sont pas bien adaptées pour évaluer l'exposition lors de l'utilisation d'un équipement pneumatique tel que celui utilisé pour le *Bti*. En effet, les données du modèle sont basées sur un volume d'application de 50 L/ha, alors que les applications de *Bti* se font plutôt entre 2,5 et 3,5 L/ha. Ce modèle paraît donc être le moins adéquat pour évaluer le risque selon ce scénario.

### 3 GRANULE DISPERSIBLE-SCENARIO 3 : PULVERISATEUR A JETS PROJETES (LANCE) MONTE SUR UN PICK-UP A 4 ROUES MOTRICES

#### 3.1 EVALUATION SELON LE SCENARIO 3

Il n'existe pas de modèle public disponible pour ces usages. Des données génériques lors de l'application avec lance ou pistolet issues du modèle EUROPOEM II seront utilisées pour cette évaluation.

Dans le modèle PHED, des données d'application à basse et haute pression avec équipement tenu dans la main seront sélectionnées.

Dans ces modèles, les applications à haute et basse pression seront utilisées combinées parce que l'exposition dans les deux jeux de données apparaissent similaires dans la base de données PHED et qu'elles ne peuvent pas être aisément séparées dans EUROPOEM II.

Toutes ces données ont été générées avec des personnes appliquant debout sur le sol où le risque de contact avec les plantes traitées (au moins sur les jambes) était plus élevé que lorsque les applicateurs se tiennent sur le véhicule portant la cuve. Pour cette raison, ces modèles sont sans doute conservateurs. Par ailleurs la taille des gouttelettes pulvérisées devrait être dans la même gamme.

#### Paramètres d'application considérés :

Taux d'application maximum : 420 g s.a. /ha

Volume d'application : 100 L/ha

Volume (estimé) de la cuve : 200 L

Vitesse : 5-15 km/h

Surface traitée par jour : 5 ha

Quantité de s.a. manipulée par jour : 2,1 kg

L'évaluation du risque est donc conduite ci-dessous selon les modèles EUROPOEM II et PHED. Un poids corporel de 60 kg a été considéré pour les 2 modèles.

Tableau V.4 : Scénario 3 - Evaluation selon le modèle PHED (détails en Annexe VI)

	PHED				MOS
	Exposition	Absorbé			
	(mg/kg s.a.)	(mg/kg s.a.)	(mg/j)	(mg/kg pc/j) *	
<i>Exposition cutanée M/C et application</i>					
Sans protection	225,5	225,5	473,5	7,892	
Gants	1,143	1,143	2,399	0,03999	
<i>Inhalation</i>					
Total	0,04684	0,04684	0,09836	0,001639	
<b>Total (cutané+ inhalation)</b>					
Sans protection	225,5	225,5	473,6	7,894	<b>507</b>
Gants	1,189	1,189	2,498	0,04163	<b>96092</b>

\* pour une personne de 60 kg

Tableau V.5 : Scénario 3 - Evaluation selon le modèle EUROPOEM II (détails en Annexe VII)

	EUROPOEM				MOS
	Exposition	Absorbé			
	(mg/kg s.a.)	(mg/kg s.a.)	(mg/j)	(mg/kg pc/j) *	
<i>Exposition cutanée mélange/chargement</i>					
Sans protection	27,81	27,81	58,40	0,9734	
Gants	0,183	0,183	0,3843	0,006405	
<i>Exposition cutanée application</i>					
Sans protection	110,7	110,7	232,6	3,876	
Gants	84,82	84,82	178,1	2,969	
<i>Exposition cutanée M/C et application</i>					
Sans protection	138,56	138,6	291,0	4,850	
Gants M/C	110,9	110,9	233,0	3,883	
Gants mélange/chargement & Application	85,00	85,00	178,5	2,975	
<i>Inhalation</i>					
Mélange/chargement	0,0014	0,0014	0,002940	0,00004900	
Application	0,356	0,356	0,7476	0,01246	
Total	0,3574	0,3574	0,7505	0,01251	
<b>Total (cutané+ inhalation)</b>					
Sans protection	138,9	138,9	291,7	4,862	<b>823</b>
Gants mélange/chargement	111,3	111,3	233,7	3,895	<b>1027</b>
Gants mélange/chargement & Application	85,36	85,36	179,3	2,988	<b>1339</b>

\* pour une personne de 60 kg

### 3.2 CONCLUSION POUR LE GRANULE DISPERSIBLE-SCENARIO 3

Il n'existe pas de modèle public d'évaluation du risque pour des applications avec une lance reliée à une cuve portée par un véhicule 4x4.

Les applications utilisant un équipement tenu dans la main constituent probablement le modèle le plus proche parce que dans les deux cas, l'application est effectuée à l'aide d'un pistolet ou d'une lance reliée par un tuyau flexible à une cuve. Cependant des différences existent entre ces deux méthodes d'application:

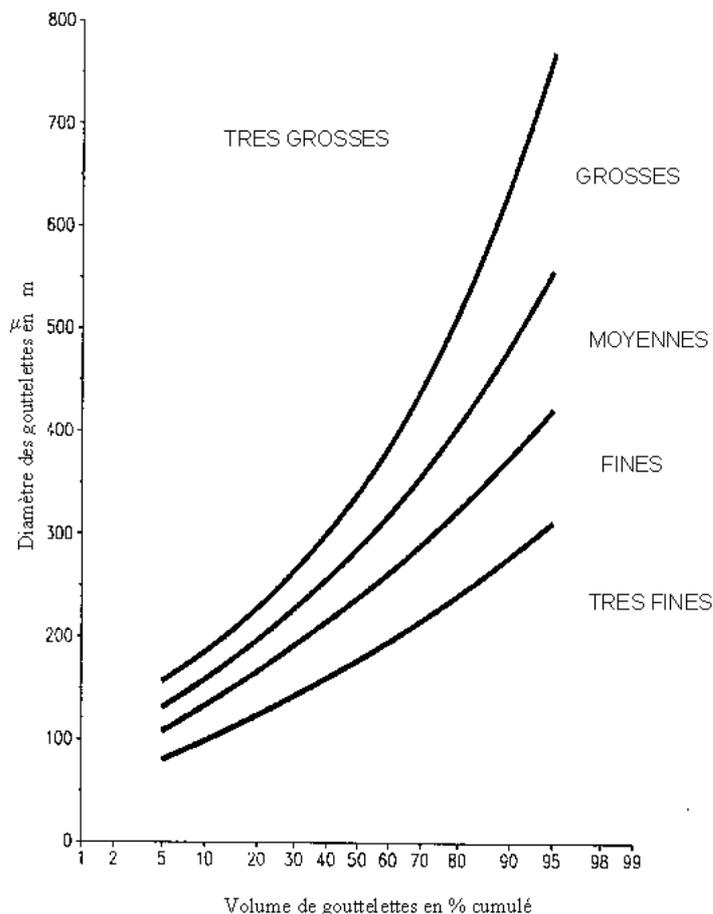
- Dans le cas de l'application du *Bti*, une contamination générale de la surface du véhicule sur lequel se tient l'applicateur peut survenir, ce qui sous-estimerait l'exposition.
- D'autre part, lors de l'application du *Bti*, l'opérateur ne sera pas en contact direct avec les plantes traitées ce qui surestimera l'exposition.

L'évaluation de l'exposition faite pour ce scénario montre que le risque est acceptable selon les deux modèles utilisés, même si l'opérateur ne porte pas de gants de protection. D'après PHED, la marge de sécurité est égale à 507 et d'après EUROPOEM, la MOS est égale à 823.

#### 4 GRANULE DISPERSIBLE-SCENARIO 4 : EXPOSITION DE L'ACCOMPAGNANT ET DE LA PERSONNE PRESENTE

##### 4.1 PULVERISATEUR MANUEL A PRESSION PREALABLE (5 L)

La taille des gouttelettes issues d'un pulvérisateur à pression préalable est trop élevée pour pouvoir être inhalée. En effet, la distribution de la taille des gouttelettes est contrôlée pour les pulvérisateurs portatifs (procédures de contrôle FAO<sup>13</sup>). Les gouttelettes ont principalement une taille supérieure à 100 µm de diamètre comme le montre le graphique ci-dessous. Or ce diamètre est la valeur supérieure pour les particules inhalables. Quant aux particules respirables, leur taille doit être inférieure à 4 µm.



De plus, ces gouttelettes ne sont pas projetées très loin (seulement quelques mètres) et elles tombent rapidement sur le sol à cause de leur taille. Quelques secondes après l'application, il n'y a plus aucune gouttelette dans l'air.

<sup>13</sup> Précisions sur le site <http://www.fao.org/docrep/X2245F/X2245F02.htm>

C'est pourquoi, comme l'application n'est pas conduite près de zones habitées, le risque pour une personne présente est négligeable.

---

#### 4.2 PULVERISATEUR PNEUMATIQUE A PARTIR D'UN QUAD OU D'UN VEHICULE A CHENILLES SANS CABINE

---

La dérive survenant lors de l'application avec un tel équipement pourrait être semblable à celle mesurée lors d'une application sur vigne. Selon des données de pire cas (Rautmann, 2001<sup>14</sup>) sur la dérive lors d'une application sur champ, il est montré qu'à 10 m (ce qui représente la distance à laquelle peut se situer une personne présente juste en dehors de la zone traitée) les quantités déposées représentent 0,3% ou moins de la dose appliquée (90<sup>e</sup> pourcentile). Lors d'une application sur vigne (Rautmann, 2001), les quantités déposées à 10 m correspondent à 1,23% de la dose appliquée. D'après cette extrapolation, on considère que l'exposition pendant l'application sur vigne est 4,1 fois plus élevée que lors d'une application avec un tracteur équipé d'une rampe de buses hydrauliques. Si l'exposition d'une personne présente comparée à celle d'un applicateur est proportionnelle à la durée d'exposition et à la quantité de substance dans l'air, il est peu probable que l'exposition des personnes présentes hors de la surface traitée excède la valeur de la dose tolérée.

Des mesures directes de l'exposition des personnes présentes faites au Royaume-Uni pendant des applications avec rampes à buses hydrauliques (Lloyd et Bell, 1983)<sup>15</sup> viennent appuyer cette conclusion. Dans le cas typique d'un passage unique du pulvérisateur, l'exposition cutanée potentielle (ECP) a été mesurée égale à 0,1 mL de pulvérisation sur une personne présente située à 8 m du bord de la surface traitée. L'exposition moyenne potentielle par inhalation a été typiquement égale à 0,02 mL pulvérisation/m<sup>3</sup>. Les valeurs maximales obtenues atteignaient environ 5 fois ces valeurs moyennes.

Quand on extrapole ces valeurs de contamination cutanée et par inhalation à la vigne et en considérant une exposition 4,1 fois plus élevée selon l'étude de Rautmann (2001), on peut considérer que pour la vigne, l'ECP sera 0,41 mL de bouillie. L'exposition par inhalation sera 0,082 mL bouillie/m<sup>3</sup>.

Pour le *Bti*, il est supposé que :

8) DSEIO = 4000 mg/kg pc/j ;

9) la concentration dans la bouillie est au plus égale à 168 mg *Bti*/mL ;

10) 100 % de l'exposition potentielle par inhalation est absorbée et retenue ;

11) un volume respiratoire égal à 3,2 m<sup>3</sup>/h pendant un travail éprouvant pour un adulte et 2,4 m<sup>3</sup>/h pour un enfant de 6 ans en activité intense<sup>16</sup> ;

12) une durée d'exposition de 5 minutes ;

13) un poids corporel de 60 kg pour un adulte et 22 kg pour un enfant de 6 ans<sup>4</sup>.

Ainsi l'exposition d'une personne présente au *Bti* peut être déterminée comme suit:

---

<sup>14</sup> Rautmann, D., Streloke, M., Winkler, R. (2001) New basic drift values in the authorization procedure for plant protection products. In: Forster, R.; Streloke, M. (eds): Workshop on risk assessment and risk mitigation measures in the context of authorization of plant protection (WORMM): 27. -29. September 1999. Organised by Federal Biological Research Centre for Agriculture and Forestry, Biology Division, Braunschweig, Germany. Berlin: Parey. Mitt. Biol. Bundesanst. Land- Forstwirtschaft. 383, 133 - 141. Published

<sup>15</sup> Lloyd GA, Bell GJ (1983) Hydraulic nozzles: Comparative spray drift study, UK Ministry Agriculture Fisheries and Food. Published

<sup>16</sup> Thongsinthusak T. (1997) Position paper : Standard reference values and availability of exposure factors handbook. California Environmental Protection Agency, Department of Pesticide Regulation.

- Adulte :

\* Contamination cutanée :

$$0,41 \text{ mL} \times 168 \text{ mg/mL} = 68,88 \text{ mg/j, soit } 1,148 \text{ mg/kg pc/j}$$

\* Contamination par inhalation :

$$5 \text{ min} \times 3,2 \text{ m}^3 / 60 \text{ min} \times 0,082 \text{ mL/m}^3 \times 168 \text{ mg/mL} = 3,6736 \text{ mg/j}$$

soit 0,06123 mg/kg pc/j

La dose absorbée par voie cutanée correspond à la valeur obtenue de contamination cutanée multipliée par le facteur de pénétration cutanée. Pour le *Bti*, le facteur de pénétration cutanée est de 100% (cf. « Partie IV – Toxicologie »).

	<i>Absorption cutanée</i>	<i>Absorption par inhalation</i>	<i>Dose totale absorbée</i>
Dose (mg/kg/j)	1,148	0,06123	1,209
<b>MOS</b>			<b>3308</b>

- Enfant de 6 ans :

\* Contamination cutanée :

$$0,41 \text{ mL} \times 168 \text{ mg/mL} = 68,88 \text{ mg/j, soit } 3,131 \text{ mg/kg pc/j}$$

\* Contamination par inhalation:

$$5 \text{ min} \times 2,4 \text{ m}^3 / 60 \text{ min} \times 0,082 \text{ mL/m}^3 \times 168 \text{ mg/mL} = 2,755 \text{ mg/j}$$

soit 0,125 mg/kg pc/j

La dose absorbée par voie cutanée correspond à la valeur obtenue de contamination cutanée multipliée par le facteur de pénétration cutanée. Pour le *Bti*, le facteur de pénétration cutanée est de 100% (cf. « Partie IV – Toxicologie »).

	<i>Absorption cutanée</i>	<i>Absorption par inhalation</i>	<i>Dose totale absorbée</i>
Dose (mg/kg/j)	3,131	0,125	3,256
<b>MOS</b>			<b>1228</b>

Le risque pour la personne présente lors de l'application avec un pulvérisateur pneumatique à partir d'un Quad ou d'un véhicule à chenilles sans cabine est acceptable. En effet, la marge de sécurité est égale à 1228 chez l'enfant et 3308 chez l'adulte.

#### 4.3 PULVERISATEUR A JETS PROJETES MONTE SUR UN PICK-UP A 4 ROUES MOTRICES

Il n'existe pas de valeur de dérive quand celle-ci survient pendant une application avec une lance. C'est pourquoi, une valeur de dérive maximale est utilisée par défaut ; elle correspond à 33,2% de la dose appliquée<sup>17</sup>. Ce coefficient de dérive est présenté dans les documents FOCUS relatifs aux eaux de surface (FOCUS, 2001). Selon le même raisonnement que celui présenté au point 4.2, l'exposition pendant l'application à la lance est 110,67 fois plus élevée que lors d'une application avec un tracteur équipé d'une rampe de buses hydrauliques. Par extrapolation à partir des valeurs mesurées par Lloyd et Bell (1983), l'exposition cutanée potentielle (ECP) sera 11,1 mL de bouillie. L'exposition par inhalation sera 2,21 mL bouillie/m<sup>3</sup>.

<sup>17</sup> Modèle AgDrift, STDF 1999

Pour le *Bti*, il est supposé que :

- 1) DSEIO = 4000 mg/kg pc/j ;
- 2) la concentration dans la bouillie est au plus égale à 0,42 mg *Bti*/mL ;
- 3) 100 % de l'exposition potentielle par inhalation est absorbée et retenue ;
- 4) un volume respiratoire égal à 3,2 m<sup>3</sup>/h pendant un travail éprouvant pour un adulte et 2,4 m<sup>3</sup>/h pour un enfant de 6 ans en activité intense <sup>18</sup> ;
- 5) une durée d'exposition de 5 minutes ;
- 6) un poids corporel de 60 kg pour un adulte et 22 kg pour un enfant de 6 ans <sup>4</sup>.

Ainsi l'exposition d'une personne présente au *Bti* peut être déterminée comme suit :

- Adulte :

\* Contamination cutanée :

$$11,1 \text{ mL} \times 0,42 \text{ mg/mL} = 4,662 \text{ mg/j, soit } 0,0777 \text{ mg/kg pc/j}$$

\* Contamination par inhalation:

$$5 \text{ min} \times 3,2 \text{ m}^3 / 60 \text{ min} \times 2,21 \text{ mL/m}^3 \times 0,42 \text{ mg/mL} = 0,2475 \text{ mg/j}$$

soit 0,00413 mg/kg pc/j

La dose absorbée par voie cutanée correspond à la valeur obtenue de contamination cutanée multipliée par le facteur de pénétration cutanée. Pour le *Bti*, le facteur de pénétration cutanée est de 100% (cf. « Partie IV – Toxicologie »).

	<i>Absorption cutanée</i>	<i>Absorption par inhalation</i>	<i>Dose totale absorbée</i>
Dose (mg/kg/j)	0,0777	0,00413	0,0818
<b>MOS</b>			<b>48884</b>

- Enfant de 6 ans :

\* Contamination cutanée :

$$11,1 \text{ mL} \times 0,42 \text{ mg/mL} = 4,662 \text{ mg/j, soit } 0,2119 \text{ mg/kg pc/j}$$

\* Contamination par inhalation :

$$5 \text{ min} \times 2,4 \text{ m}^3 / 60 \text{ min} \times 2,21 \text{ mL/m}^3 \times 0,42 \text{ mg/mL} = 0,1856 \text{ mg/j}$$

soit 0,00844 mg/kg pc/j

La dose absorbée par voie cutanée correspond à la valeur obtenue de contamination cutanée multipliée par le facteur de pénétration cutanée. Pour le *Bti*, le facteur de pénétration cutanée est de 100% (cf. « Partie IV – Toxicologie »).

	<i>Absorption cutanée</i>	<i>Absorption par inhalation</i>	<i>Dose totale absorbée</i>
Dose (mg/kg/j)	0,2119	0,00844	0,2203
<b>MOS</b>			<b>18154</b>

Le risque pour la personne présente lors de l'application avec un pulvérisateur à jets projetés monté sur un pick-up à 4 roues motrices est acceptable. En effet, la marge de sécurité est égale à 18154 chez l'enfant et 48884 chez l'adulte.

<sup>18</sup> Thongsinthusak T. (1997) Position paper : Standard reference values and availability of exposure factors handbook. California Environmental Protection Agency, Department of Pesticide Regulation.

## 5 GRANULE-SCENARIO 1 : APPLICATION A LA MAIN

### 5.1 EVALUATION SELON LE SCENARIO 1

#### 5.1.1 Modèle jardin

Des mesures d'exposition conduites selon les Bonnes Pratiques de Laboratoire ont été effectuées en 2003 lors de l'application manuelle d'une formulation engrais/désherbant sélectif sur gazon par des jardiniers amateurs. Ces opérateurs ont appliqué des granulés à la volée sur une surface moyenne de 370 m<sup>2</sup> (min. 120 et max. 675 m<sup>2</sup>).

Ces données ont été intégrées dans le « Modèle expo jardin v3\_4 ».

Une évaluation de l'exposition peut être conduite avec ce modèle même si le scénario et les paramètres sont différents. En effet, dans l'étude en jardin, la durée moyenne de l'application de granulés était de 28 minutes ; il s'agissait de jardiniers amateurs.

Cependant, l'épandage de granulés se faisait en plein sur le gazon, alors que pour le *Bti*, l'application impliquera davantage de déplacements entre les différents sites à traiter et donc une quantité de granulés appliqués moindre pour une durée donnée compte tenu du temps de déplacement entre les zones à traiter. Le niveau d'exposition obtenu devrait au final être assez réaliste. Par ailleurs, il est logique de considérer que rapidement, la quantité de substance ajoutée par nouveau contact avec le produit s'équilibre avec la quantité retirée par le même mécanisme (en particulier au niveau de la main et des gants). Ceci est confirmé par l'absence totale de corrélation entre la contamination de chaque individu avec la quantité manipulée, la surface traitée et le temps de traitement. L'unité utilisée dans ce modèle est donc l'exposition par tâche.

Tableau V.6 : Evaluation selon le Modèle expo jardin v3\_4 (détails en Annexe I)

<b>Données toxicologiques</b>			<b>Formulation</b>		
Nom s.a.:	<i>Bti</i>		Type:	Granulé prêt à l'emploi	
NOAEL :	4000	mg/kg pc/j	Concentration s.a. dans la formulation:	28	g/kg
			Dose homologuée :	15	g/10 m <sup>2</sup>
<b>Pénétration cutanée</b>			<b>Données d'application</b>		
Formulation concentrée:	100 %		Equipement utilisé:	Epannage manuel (granulés)	

Evaluation du risque (90 <sup>e</sup> pourcentile)	SANS GANTS				MOS
	Exposition (mg formulation/j)	Exposition (µg s.a./j)	Dose absorbée (µg s.a./j)	Dose absorbée (µg s.a./kg pc/j)*	
Exposition par inhalation :	0,141	3,948	3,948	0,0658	11869
Exposition cutanée :	722	20218	20218	337	
Exposition totale (inhalation + cutanée) :	722,141	20222	20222	337	

\* pour une personne de 60 kg

### 5.1.2 Calcul basé sur la contamination des mains seulement

Une évaluation de l'exposition peut aussi être conduite pour une application manuelle, en considérant les hypothèses suivantes :

- La **surface d'une main** d'une personne adulte est au plus égale à **500 cm<sup>2</sup>** <sup>(19)</sup>. On considèrera comme un pire cas la surface entière de la main (dessus y compris) avec l'opérateur plongeant sa main dans un récipient (ou un sac) contenant les granulés. Une seule main est prise en compte parce que l'autre maintient l'emballage (ou le récipient intermédiaire) contenant la formulation.
- Le **temps de contact** entre les granulés et la main est court, parce que les granulés tombent rapidement (au moins vis-à-vis du dessus de la main). La durée d'exposition ne peut donc pas être utilisée dans l'évaluation de l'exposition.
- L'exposition par **inhalation est négligeable**. Les granulés devraient en effet être essentiellement non pulvérulents et la résistance à l'attrition élevée.
- En l'absence de données sur la **quantité de poudre qui reste sur la main** après épandage des granulés, il est possible d'utiliser des données d'adhérence de terre sur les mains <sup>(20)</sup>. Ces essais indiquent une adhérence de 0,0063 à 50,0 mg/cm<sup>2</sup>. Dans cette évaluation, la plus forte valeur sera retenue comme pire cas, soit **50 mg/cm<sup>2</sup>**.

Certaines de ces hypothèses sont volontairement maximalistes de façon à couvrir des usages extrêmes.

Quelle que soit la durée de l'application et la quantité de granulés manipulés au cours d'une journée, il est probable que la quantité de poudre qui reste sur les doigts est sans doute très inférieure à 50 mg/cm<sup>2</sup>, parce que la terre "colle" davantage que des granulés (qui ne sont pas pulvérulents). Néanmoins cette valeur va servir de support à l'évaluation du risque.

La quantité de poudre de granulés qui reste sur la main après application est donc au plus égale à 25 g (50 mg/cm<sup>2</sup> x 500 cm<sup>2</sup>), soit 700 mg de *Bti*.

La quantité absorbée est égale à 700 mg/jour (700 x 1). Pour une personne de 60 kg, cela représente 11,67 mg/kg pc/j.

Si l'applicateur porte des gants de protection pour épandre les granulés, l'exposition est réduite de 90 %. **La quantité absorbée est donc égale à 1,167 mg/kg pc/j.**

**La marge de sécurité est égale à 3428 (4000 / 1,167).**

<sup>19</sup> USEPA 1996, Adult Exposure Factors Recommended by NAFTA (USEPA, Health Canada, and California DPR) ; la surface des 2 mains représente 904 cm<sup>2</sup> en moyenne pour hommes et femmes combinées (990 cm<sup>2</sup> pour hommes seulement).

<sup>20</sup> Kissel *et al.* (1996) cité dans USEPA (1997) et dans "Exposure Factors Sourcebook for European Populations, with Focus on UK Data", NICOLE Exposure Factors Project: Sponsored by ExxonMobil, ICI, and Shell, May 2000.

---

## 5.2 CONCLUSION POUR LE GRANULE-SCENARIO 1

---

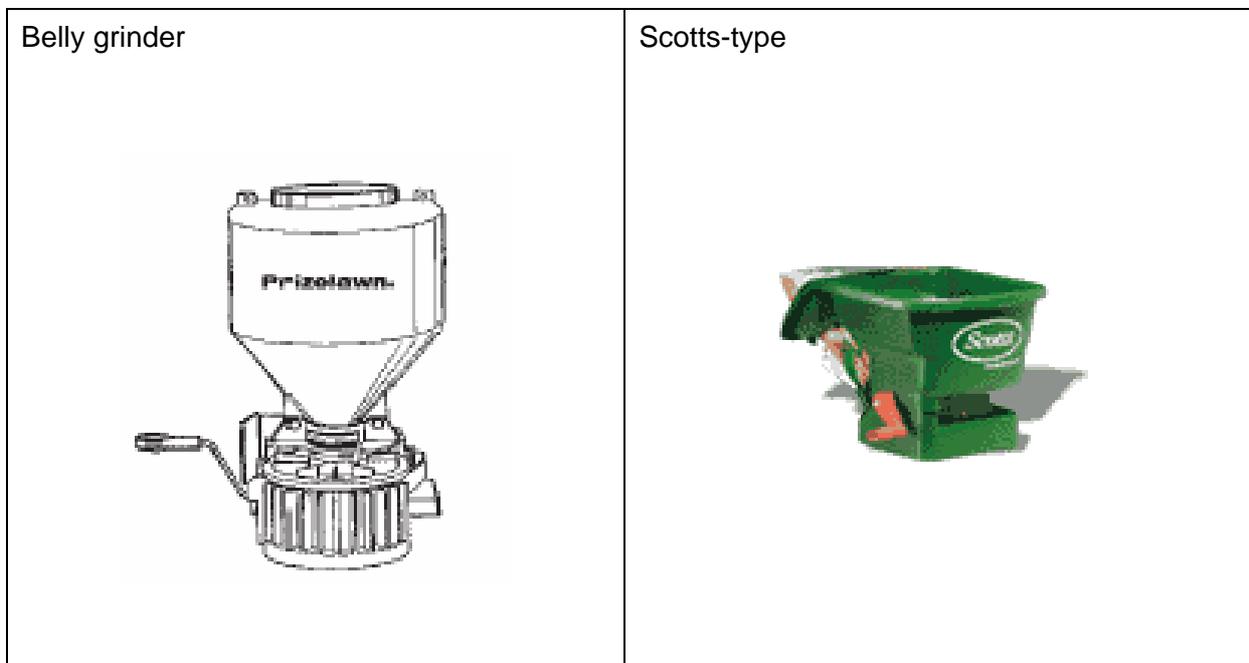
Selon le modèle jardin (point 5.1.1), le risque est acceptable pour un opérateur qui applique les granulés VECTOBAC® G à la main. La marge de sécurité obtenue lors d'une application sans gants est de 11869.

Par ailleurs, selon les résultats de l'évaluation conduite sur la base d'hypothèses très conservatrices et de la quantité de poudre qui peut adhérer sur la main (point 5.1.2), le risque est acceptable pour un opérateur qui applique à la main des granulés à base de *Bti*.

## 6 GRANULE-SCENARIO 2 : APPLICATION AVEC UN PETIT APPAREIL MANUEL

### 6.1 EVALUATION SELON LE SCENARIO 2

Les appareils utilisés pour épandre des granulés sont de type « belly grinder » ou « Scotts-type ». Ces appareils sont habituellement utilisés pour appliquer des engrais/désherbants sélectifs dans les jardins et espaces verts. Les granulés sont introduits dans un petit réservoir à base conique. Un couvercle est prévu pour fermer le réservoir après remplissage. En tournant une manivelle latérale à l'appareil (bien visible sur la photo de gauche), les granulés sont épandus à la verticale de l'appareil dans les conditions normales de fonctionnement.



Ce scénario est décrit pour couvrir toutes les possibilités de méthodes d'application de produit granulé contenant du *Bti* dans le cadre de la lutte antivectorielle. Néanmoins en raison de la nature des zones à traiter pour les larvicides, à savoir des plans d'eau, il est probable que la solution manuelle soit le plus souvent privilégiée sur le terrain.

Dans le modèle PSD PHED, soixante données d'application avec ces appareils issues de 4 études distinctes sont sélectionnées sous la dénomination « équipement manuel ». L'exposition survenant pendant le chargement du réservoir et l'application a été mesurée conjointement.

Ces données ont été générées lors d'applications en plein alors que l'application de VECTOBAC® G est ponctuelle : les déplacements d'un point de traitement à l'autre font que le temps de traitement et la quantité de granulés sont réduits. Une surface de 5000 m<sup>2</sup> est donc probablement un maximum.

#### Paramètres d'application considérés :

Taux d'application maximum : 420 g s.a. /ha

Capacité de la cuve : 9 kg

Surface traitée par jour : 5000 m<sup>2</sup>

Quantité de s.a. manipulée par jour : 0,21 kg

L'évaluation du risque est donc conduite ci-dessous selon le modèle PHED. Les données de PHED incluent le port de gants et d'une combinaison de travail pendant le chargement et l'application des granules.

Tableau V.7 : Calcul de MOS par le modèle PHED

**EXPOSITION A UNE FORMULATION GRANULE: MANUEL**

**VARIABLES**

Surface quotidienne	0,5 ha/j	Protection respiratoire
Dose d'application	0,42 kg s.a./ha	Chargement/
Absorption cutanée	100 %	Application : Non
Absorption par inhalation	100 %	
NOAEL	4000 mg/kg pc/j	

	75 <sup>e</sup> PERCENTILES	
<b>CHARGEMENT / APPLICATION</b>		
<b>Exposition cutanée</b>		
Données PHED – mains réel	28,53201 mg/kg s.a.	
Données PHED – corps réel	65,32027 mg/kg s.a.	
kg s.a. chargés/appliqués	0,21 kg s.a./j	
Expo cutanée	19,7090 mg s.a./j	
dose absorbée	19,7090 100%	
<b>Exposition par inhalation</b>		
Données PHED	0,467733 mg/kg s.a.	
kg s.a. chargés	0,21 kg s.a./j	
Expo par inhalation	0,0982239 mg s.a./j	
dose absorbée	0,0982239 100 %	
<b>EXPO TOTALE SYSTEMIQUE</b>	0,33012 mg/kg pc/j	
<b>MOS</b>	<b>12117</b>	

**6.2 CONCLUSION POUR LE GRANULE-SCENARIO 2**

Compte tenu des différences entre le scénario 2 et les conditions de mesure du modèle PHED, le risque est sans doute surévalué.

L'évaluation de l'exposition montre que le risque est acceptable selon PSD PHED (75<sup>e</sup> percentiles). La marge de sécurité est égale à 12117.

---

## 7 GRANULE-SCENARIO 3 : EXPOSITION DE L'ACCOMPAGNANT ET DE LA PERSONNE PRESENTE

Le risque d'exposition de la personne présente au *Bti* est négligeable si les précautions d'utilisation recommandées sont respectées.

En effet, le risque d'exposition par inhalation devrait être négligeable parce que les granulés VECTOBAC® G ne devraient pas être pulvérulents et que leur résistance à l'attrition devrait être élevée (pas de données publiées). De plus, comme les granulés sont appliqués sur des zones aquatiques, il n'est pas possible que des poussières soient remises en suspension dans l'air après application.

Par voie cutanée, le risque est négligeable ; le phénomène de dérive aérienne des granulés est très faible et ils tombent rapidement sur l'eau.

## 8 CONCLUSION GENERALE

MOS acceptables selon le scénario et le modèle utilisé pour les opérateurs

Granulé dispersible (VECTOBAC® WG)				
Scénario	POEM	BBA	EUROPOEM II	PHED
1 - Pulvérisateur manuel à pression préalable	207 (gants M/C & appl.)	3086 (sans protection)	-	-
2 - Pulvérisateur pneumatique	67 (gants M/C & appl.)	2112 (sans protection)	-	2729 (sans protection)
3 - Lance (ou pistolet) reliée à une cuve	-	-	507 (sans protection)	823 (sans protection)
Granulé (VECTOBAC® G)				
Scénario	Modèle jardin	« Contamination des mains ; adhérence »	PSD - PHED	
1 – Application manuelle	11869 (sans protection)	3428 (sans protection)	-	
2 – Petit appareil manuel	-	-	12117 (gants + combinaison de travail pendant M/C & Appl.)	

-: pas de modèle

Les modèles utilisés couramment pour l'évaluation du risque (POEM et BBA) ne couvrent pas exactement les types d'équipement envisagés pour les applications de *Bti* dans le cadre de la lutte antivectorielle. Des équipements proches ont été considérés et leurs avantages et inconvénients discutés.

Les conclusions suivantes peuvent être tirées en considérant qu'une marge de sécurité (MOS) supérieure à 250 est considérée comme étant acceptable :

Le risque est acceptable dans tous les cas sans équipement de protection, sauf quand le modèle POEM est utilisé pour calculer l'exposition.

D'après le modèle POEM, le risque n'est pas acceptable même si l'opérateur porte des gants de protection pendant le mélange/chargement et l'application pour les scénarios 1 (MOS = 207) et 2 (MOS = 67) pour la formulation WG. Cependant, comme cela a déjà été expliqué plus haut (voir sections 1.2 et 2.2), le modèle POEM est le modèle le moins bien adapté à l'évaluation de l'exposition pendant ces scénarios.

De plus le risque est estimé en utilisant des hypothèses très conservatrices :

- facteur de 100 % pour estimer l'exposition cutanée en l'absence de données, bien que la substance active soit une bactérie,
- dérivation d'une dose sans effet indésirable observé à partir de la seule étude chronique disponible. L'ensemble des études disponibles indique l'absence d'effet toxique par administration du *Bti*.

On peut donc conclure qu'un opérateur portant des gants pendant le mélange/chargement et l'application de formulations WG ou GR à base de *Bti* court un risque très limité. Dans le cas où une personne aide l'opérateur (conduite du véhicule, manipulation du tuyau reliant la lance à la cuve, le cas échéant), il est recommandé que cette personne porte aussi des gants de protection.

*MOS acceptables pour les personnes présentes et les accompagnants*

<b>Granulé dispersible (VECTOBAC® WG)</b>	
<b>Scénario</b>	
1 - Pulvérisateur manuel à pression préalable	Pas de modèle mais risque négligeable
2 - Pulvérisateur pneumatique	Adulte : 3308 Enfant : 1228
3 - Lance (ou pistolet) reliée à une cuve	Adulte : 48884 Enfant : 18154
<b>Granulé (VECTOBAC® G)</b>	
<b>Scénario</b>	
1 – Application manuelle	Pas de modèle mais risque négligeable
2 – Petit appareil manuel	

-: pas de modèle

Le risque est aussi acceptable pour l'accompagnant et la personne présente pendant la phase d'application quel que soit le scénario retenu.

Dans tous les cas (opérateur, accompagnant, personne présente), il est très important de respecter les consignes de sécurité lors de l'emploi de ces formulations de LAV, notamment en portant les équipements individuels de protection qui sont recommandés au cas par cas.

**ANNEXE I : GRANULE DISPERSIBLE-SCENARIO 1: PULVERISATEUR A PRESSION PREALABLE (POEM)**

<b>A Données relatives au Produit</b>					
Active Substance	<i>Bti</i>				
Concentration s.a. dans la formulation	420				mg/g
Type de formulation	WG				
Concentration de la bouillie	28				g/L
Dose s.a./ha	420				g/ha
<b>B Exposition cutanée pendant le mélange/chargement</b>					
Exposition des mains / kg substance active	171,4				mg/kg sa
Exposition des mains / jour	215,964				mg/j
Protection	<b>Aucune</b>	<b>Gants</b>			
Transmission à la peau	100	1			%
Exposition cutanée	215,964	2,1596			mg/j
Pénétration cutanée	100	100			%
<b>Dose absorbée par la peau</b>	<b>215,964</b>	<b>2,1596</b>			<b>mg/j</b>
<b>C Exposition par inhalation pendant le mélange/chargement</b>					
Exposition par inhalation / kg substance active	0,0628				mg/kg sa
Exposition par inhalation / jour	0,079128				mg/j
Protection	<b>Aucune</b>				
Transmission	100				%
<b>Dose absorbée par inhalation</b>	<b>0,079128</b>				<b>mg/j</b>
<b>D Exposition cutanée pendant l'application</b>					
Volume de bouillie appliquée	15				L/ha
Volume de contamination	50				mL/h
	Mains	Mains	Tronc	Jambes	
Distribution	25	25	25	50	%
Protection	Aucune	Gants	perméable	perméable	
Transmission à la peau	100	10	20	18	%
Exposition cutanée	10,000	1,250	2,500	4,500	mL/h
Durée de l'exposition	5				h
<b>Mesures de protection</b>	<b>Aucune</b>	<b>Gants</b>			
Exposition cutanée totale pendant l'application	85,000	41,250			mL/j
Concentration en substance active	28	28			mg/mL
Exposition cutanée à la substance active	2380	1155			mg/j
Pénétration cutanée	100	100			%
<b>Dose absorbée par exposition cutanée</b>	<b>2380</b>	<b>1155</b>			<b>mg/j</b>
<b>E Exposition par inhalation pendant l'application</b>					
1 Exposition à la bouillie par inhalation	0,020				mL/h
2 Durée de l'exposition	5				h
3 Concentration en substance active	28				mg/mL
4 Exposition à la substance active par inhalation	2,8				mg/j
5 Absorption (%)	100				%
<b>6 Dose absorbée par inhalation</b>	<b>2,8</b>				<b>mg/j</b>
<b>F Dose totale absorbée</b>					
	<b>Pas de protection</b>	<b>Gants MC</b>	<b>Gants MC et Applic.</b>		
<b>Voie cutanée</b>	2596	2382	1157		mg/j
<b>Inhalation</b>	2,879	2,879	2,879		mg/j
<b>Dose totale absorbée</b>	2599	2385	1160		<b>mg/j</b>
<b>Dose totale absorbée (personne de 60 kg)</b>	43,31	39,75	19,33		<b>mg/kg/j</b>
<b>MOS</b>	<b>92</b>	<b>101</b>	<b>207</b>		

**ANNEXE II : GRANULE DISPERSIBLE-SCENARIO 1: PULVERISATEUR A PRESSION PREALABLE (MOD. BBA)**

Substance active (s.a.)	<i>Bti</i>	
Type de formulation	WG	
Concentration s.a. dans la formulation	420	g/kg
Taux d'application	1	kg/ha
Surface traitée	3	ha/j
Quantité de s.a. manipulée	1,26	kg/j

Mélange/chargement (M/C)			
<b>Exposition par inhalation</b>			
Exposition générique	0,02	0,02	mg/kg s.a./j
Exposition à la s.a. manipulée	0,0252	0,0252	mg/pers./j
Absorption	100	100	%
Dose absorbée	0,0252	0,0252	mg/pers./j
<b>Exposition cutanée (mains)</b>			
	<b>Pas de protection</b>	<b>Gants</b>	
Exposition générique	21	21	mg/kg s.a./j
Transfert à la peau	100	1	%
Exposition à la s.a. manipulée	26,46	0,2646	mg/pers./j
Absorption cutanée	100	100	%
Dose absorbée	26,46	0,2646	mg/pers./j
<b>Dose totale absorbée (M/C)</b>	<b>26,49</b>	<b>0,2898</b>	<b>mg/pers./j</b>

Application (Applic.)	Pas de protection	Gants	
<b>Exposition par inhalation</b>			
Exposition générique	0,300	0,300	mg/kg s.a./j
Exposition à la s.a. manipulée	0,378	0,378	mg/pers./j
Absorption	100	100	%
Dose absorbée	0,378	0,378	mg/pers./j
<b>Exposition cutanée (tête)</b>			
Exposition générique	4,80	4,80	mg/kg s.a./j
Transfert à la peau	100	100	%
Exposition à la s.a. manipulée	6,048	6,048	mg/pers./j
Absorption cutanée	100	100	%
Dose absorbée	6,048	6,048	mg/pers./j
<b>Exposition cutanée (mains)</b>			
Exposition générique	10,60	10,60	mg/kg s.a./j
Transfert à la peau	100	1	%
Exposition à la s.a. manipulée	13,356	0,13356	mg/pers./j
Absorption cutanée	100	100	%
Dose absorbée	13,356	0,13356	mg/pers./j
<b>Exposition cutanée (corps)</b>			
Exposition générique	25,00	25,00	mg/kg s.a./j
Transfert à la peau	100	100	%
Exposition à la s.a. manipulée	31,5	31,5	mg/pers./j
Absorption cutanée	100	100	%
Dose absorbée	31,5	31,5	mg/pers./j
<b>Dose totale absorbée (Application)</b>	<b>51,282</b>	<b>38,058</b>	<b>mg/pers./j</b>

Dose totale absorbée pendant le M/C et l'application	Pas de protection	Gants M/C	Gants M/C & Applic.	
<b>Exposition cutanée</b>				
Mélange/chargement	26,46	0,2646	0,2646	mg/pers./j
Application	50,904	50,904	37,68	mg/pers./j
Dose totale cutanée absorbée	77,364	51,1686	37,9446	mg/pers./j
<b>Exposition par inhalation</b>				
Mélange/chargement	0,0252	0,0252	0,0252	mg/pers./j
Application	0,378	0,378	0,378	mg/pers./j
Dose totale absorbée - inhalation	0,4032	0,4032	0,4032	mg/pers./j
<b>Dose totale absorbée</b>	<b>77,77</b>	<b>51,57</b>	<b>38,35</b>	<b>mg/pers./j</b>
<b>Dose totale abs. (pers. 60 kg)</b>	<b>1,296</b>	<b>0,8595</b>	<b>0,6391</b>	<b>mg/kg pc/j</b>
<b>MOS</b>	<b>3086</b>	<b>4654</b>	<b>6259</b>	

**ANNEXE III : GRANULE DISPERSIBLE-PULVERISATEUR A JETS PORTES MONTE SUR UN QUAD OU UN VEHICULE A CHENILLES SANS CABINE (POEM)**

<b>A Données relatives au Produit</b>					
Active Substance	<i>Bti</i>				
Concentration s.a. dans la formulation	420				mg/g
Type de formulation	WG				
Concentration de la bouillie	168				g/L
Dose s.a./ha	420				g/ha
<b>B Exposition cutanée pendant le mélange/chargement</b>					
Exposition des mains / kg substance active	5,72				mg/kg sa
Exposition des mains / jour	48,048				mg/j
Protection	<b>Aucune</b>	<b>Gants</b>			
Transmission à la peau	100	1			%
Exposition cutanée	48,048	0,48048			mg/j
Pénétration cutanée	100	100			%
<b>Dose absorbée par la peau</b>	<b>48,048</b>	<b>0,48048</b>			<b>mg/j</b>
<b>C Exposition par inhalation pendant le mélange/chargement</b>					
Exposition par inhalation / kg substance active	0,242				mg/kg sa
Exposition par inhalation / jour	2,0328				mg/j
Protection	<b>Aucune</b>				
Transmission	100				%
<b>Dose absorbée par inhalation</b>	<b>2,0328</b>				<b>mg/j</b>
<b>D Exposition cutanée pendant l'application</b>					
Volume de bouillie appliquée	2,5				L/ha
Volume de contamination	20				mL/h
	Mains	Mains	Tronc	Jambes	
Distribution	10	10	65	25	%
Protection	Aucune	Gants	perméable	perméable	
Transmission à la peau	100	10	20	15	%
Exposition cutanée	2	0,2	2,6	0,75	mL/h
Durée de l'exposition	6				h
<b>Mesures de protection</b>	<b>Aucune</b>	<b>Gants</b>			
Exposition cutanée totale pendant l'application	32,1	21,3			mL/j
Concentration en substance active	168	168			mg/mL
Exposition cutanée à la substance active	5392,8	3578,4			mg/j
Pénétration cutanée	100	100			%
<b>Dose absorbée par exposition cutanée</b>	<b>5392,8</b>	<b>3578,4</b>			<b>mg/j</b>
<b>E Exposition par inhalation pendant l'application</b>					
1 Exposition à la bouillie par inhalation	0,020				mL/h
2 Durée de l'exposition	6				h
3 Concentration en substance active	168				mg/mL
4 Exposition à la substance active par inhalation	20,16				mg/j
5 Absorption (%)	100				%
<b>6 Dose absorbée par inhalation</b>	<b>20,16</b>				<b>mg/j</b>
<b>F Dose totale absorbée</b>					
	<b>Pas de protection</b>	<b>Gants MC</b>	<b>Gants MC et Applic.</b>		
<b>Voie cutanée</b>	5440,8	5393,3	3578,9		mg/j
<b>Inhalation</b>	22,19	22,19	22,19		mg/j
<b>Dose totale absorbée</b>	5463	5415	3601		<b>mg/j</b>
<b>Dose totale absorbée (personne de 60 kg)</b>	91,05	90,26	60,02		<b>mg/kg/j</b>
<b>MOS</b>	<b>44</b>	<b>44</b>	<b>67</b>		

**ANNEXE IV : GRANULE DISPERSIBLE-PULVERISATEUR A JETS PORTES MONTE SUR UN QUAD OU UN VEHICULE A CHENILLES SANS CABINE (MODELE BBA)**

Substance active (s.a.)	<i>Bti</i>	
Type de formulation	WG	
Concentration s.a. dans la formulation	420	g/kg
Taux d'application	1	kg/ha
Surface traitée	20	ha/j
Quantité de s.a. manipulée	8,4	kg/j

Mélange/chargement (M/C)			
<b>Exposition par inhalation</b>			
Exposition générique	0,008	0,008	mg/kg s.a./j
Exposition à la s.a. manipulée	0,0672	0,0672	mg/pers./j
Absorption	100	100	%
Dose absorbée	0,0672	0,0672	mg/pers./j
<b>Exposition cutanée (mains)</b>			
	<b>Pas de protection</b>	<b>Gants</b>	
Exposition générique	2	2	mg/kg s.a./j
Transfert à la peau	100	1	%
Exposition à la s.a. manipulée	16,8	0,168	mg/pers./j
Absorption cutanée	100	100	%
Dose absorbée	16,8	0,168	mg/pers./j
<b>Dose totale absorbée (M/C)</b>	<b>16,867</b>	<b>0,235</b>	<b>mg/pers./j</b>

Application (Applic.)	Pas de protection	Gants	
<b>Exposition par inhalation</b>			
Exposition générique	0,018	0,018	mg/kg s.a./j
Exposition à la s.a. manipulée	0,1512	0,1512	mg/pers./j
Absorption	100	100	%
Dose absorbée	0,1512	0,1512	mg/pers./j
<b>Exposition cutanée (tête)</b>			
Exposition générique	1,20	1,20	mg/kg s.a./j
Transfert à la peau	100	100	%
Exposition à la s.a. manipulée	10,08	10,08	mg/pers./j
Absorption cutanée	100	100	%
Dose absorbée	10,08	10,08	mg/pers./j
<b>Exposition cutanée (mains)</b>			
Exposition générique	0,70	0,70	mg/kg s.a./j
Transfert à la peau	100	1	%
Exposition à la s.a. manipulée	5,88	0,0588	mg/pers./j
Absorption cutanée	100	100	%
Dose absorbée	5,88	0,0588	mg/pers./j
<b>Exposition cutanée (corps)</b>			
Exposition générique	9,60	9,60	mg/kg s.a./j
Transfert à la peau	100	100	%
Exposition à la s.a. manipulée	80,64	80,64	mg/pers./j
Absorption cutanée	100	100	%
Dose absorbée	80,64	80,64	mg/pers./j
<b>Dose totale absorbée (Application)</b>	<b>96,75</b>	<b>90,93</b>	<b>mg/pers./j</b>

Dose totale absorbée pendant le M/C et l'application	Pas de protection	Gants M/C	Gants M/C & Applic.	
<b>Exposition cutanée</b>				
Mélange/chargement	16,8	0,168	0,168	mg/pers./j
Application	96,6	96,6	90,78	mg/pers./j
Dose totale cutanée absorbée	113,4	96,768	90,948	mg/pers./j
<b>Exposition par inhalation</b>				
Mélange/chargement	0,0672	0,0672	0,0672	mg/pers./j
Application	0,1512	0,1512	0,1512	mg/pers./j
Dose totale absorbée - inhalation	0,2184	0,2184	0,2184	mg/pers./j
<b>Dose totale absorbée</b>	<b>113,62</b>	<b>96,986</b>	<b>91,17</b>	<b>mg/pers./j</b>
<b>Dose totale abs. (pers. 60 kg)</b>	<b>1,894</b>	<b>1,616</b>	<b>1,519</b>	<b>mg/kg pc/j</b>
<b>MOS</b>	<b>2112</b>	<b>2475</b>	<b>2633</b>	

## ANNEXE V : GRANULE DISPERSIBLE-PULVERISATEUR A JETS PORTES MONTE SUR UN QUAD OU UN VEHICULE A CHENILLES SANS CABINE (MODELE PHED)

### MÉLANGE/CHARGEMENT

Subset Specifications for TEMP.NAME.MLOD

With Solid Type Not Equal to 1 and Not Equal to 2 and Not Equal to 3 and Not Equ

Subset originated from TEMP.NAME.MLOD

With Liquid Type Not Equal to 5 and Not Equal to 4 and

With Tank/Hoppers Capacity Less than or Equal to 150 and Greater than or Equal t

Subset originated from MLOD.FILE

#### SUMMARY STATISTICS FOR CALCULATED DERMAL EXPOSURES

**SCENARIO: Long pants, long sleeves, no gloves**

PATCH	DISTRIB.	MICROGRAMS PER KG AI MIXED					
LOCATION	TYPE	Median	Mean	Coef of Var	Geo. Mean	Obs.	
HEAD (ALL)	Other	.574	23.3188	556.9495	1.1759	35	
NECK.FRONT	Other	.0993	1.2863	278.2736	.2501	32	
NECK.BACK	Other	.0486	.2671	271.9008	.0947	32	
UPPER ARMS	Lognormal	2.5695	7461.2914	199.9426	22.4305	4	
CHEST	Other	1.5673	3.0278	116.6521	2.2143	22	
BACK	Lognormal	1.5673	2.547	56.3703	2.2494	8	
FOREARMS	Lognormal	2.9382	16.7982	247.9486	2.9439	9	
THIGHS	Lognormal	1.2649	1.2649	47.1379	1.1925	2	
LOWER LEGS	Lognormal	4.7285	34.8256	226.8116	7.4408	7	
FEET	Lognormal	1.1567	2.1208	119.3921	1.4265	6	
HANDS	Lognormal	8672.343	14461.2669	91.5957	9525.3086	9	
<b>TOTAL DERM:</b>	9565.2814	8688.8574	22008.0148		<b>9566.7274</b>		
<b>INHALATION:</b>	Lognormal	1.1038	1.7157	214.5008	<b>.3991</b>	33	
COMBINED:	9565.6805	8689.9611	22009.7305		9567.1265		

95% C.I. on Mean: Dermal: [-339591.1342, 383607.1638]

95% C.I. on Geo. Mean: Inhalation: [.0078, 20.4416]

Inhalation Rate : 25 Liters/Minute

Number of Records: 36

Data File: MIXER/LOADER

Subset Name: TEMP.NAME.MLOD

#### SUMMARY STATISTICS FOR CALCULATED DERMAL EXPOSURES

**SCENARIO: Long pants, long sleeves, gloves**

PATCH	DISTRIB.	MICROGRAMS PER KG AI MIXED					
LOCATION	TYPE	Median	Mean	Coef of Var	Geo. Mean	Obs.	
HEAD (ALL)	Other	.574	23.3188	556.9495	1.1759	35	
NECK.FRONT	Other	.0993	1.2863	278.2736	.2501	32	
NECK.BACK	Other	.0486	.2671	271.9008	.0947	32	
UPPER ARMS	Lognormal	2.5695	7461.2914	199.9426	22.4305	4	
CHEST	Other	1.5673	3.0278	116.6521	2.2143	22	
BACK	Lognormal	1.5673	2.547	56.3703	2.2494	8	
FOREARMS	Lognormal	2.9382	16.7982	247.9486	2.9439	9	
THIGHS	Lognormal	1.2649	1.2649	47.1379	1.1925	2	
LOWER LEGS	Lognormal	4.7285	34.8256	226.8116	7.4408	7	
FEET	Lognormal	1.1567	2.1208	119.3921	1.4265	6	
HANDS	Lognormal	10.3656	143.2865	266.1745	16.0442	28	
<b>TOTAL DERM:</b>	56.017	26.8799	7690.0344		<b>57.4629</b>		
<b>INHALATION:</b>	Lognormal	1.1038	1.7157	214.5008	<b>.3991</b>	33	
COMBINED:	56.4161	27.9837	7691.7501		57.862		

95% C.I. on Mean: Dermal: [-303496.5827, 318876.6516]

95% C.I. on Geo. Mean: Inhalation: [.0078, 20.4416]

Inhalation Rate : 25 Liters/Minute

Number of Records: 36

Data File: MIXER/LOADER

Subset Name: TEMP.NAME.MLOD

## ANNEXE V : GRANULE DISPERSIBLE-PULVERISATEUR A JETS PORTES MONTE SUR UN QUAD OU UN VEHICULE A CHENILLES SANS CABINE (MODELE PHED) - SUITE

### APPLICATION

Subset Specifications for TEMP.NAME.APPL  
 With Application Method Equal to 1 and  
 With Cab Type Equal to 1 and  
 With Total lb ai Applied Less than or Equal to 40  
 Subset originated from APPL.FILE

### SUMMARY STATISTICS FOR CALCULATED DERMAL EXPOSURES

**SCENARIO: Long pants, long sleeves, no gloves**

PATCH	DISTRIB.	MICROGRAMS PER KG AI SPRAYED					Obs.
LOCATION	TYPE	Median	Mean	Coef of Var	Geo. Mean		
HEAD (ALL)	Lognormal	858.3444	1942.0731	140.4455	481.9623	53	
NECK.FRONT	Lognormal	31.606	76.417	150.7969	23.0475	44	
NECK.BACK	Lognormal	23.2263	62.4422	149.5685	20.2247	48	
UPPER ARMS	Other	15.4172	142.0216	192.6326	31.7695	47	
CHEST	Lognormal	19.5916	115.8594	181.527	27.7726	51	
BACK	Other	15.6733	108.0534	193.7485	22.9751	51	
FOREARMS	Other	6.9448	40.43	178.4355	11.5404	47	
THIGHS	Lognormal	31.2009	84.9631	225.3248	26.0442	53	
LOWER LEGS	Lognormal	15.7616	33.6492	130.8428	14.5545	43	
FEET						0	
HANDS	Lognormal	193.9141	1208.9278	252.8146	235.0258	28	
<b>TOTAL DERM:</b>	866.6669	1211.6801	3814.8369		<b>894.9166</b>		
<b>INHALATION:</b>	Other	6.9391	16.0475	210.5482	<b>6.7095</b>	67	
<b>COMBINED:</b>	873.606	1218.6192	3830.8843		901.626		
95% C.I. on Mean: Dermal: [-25045.8992, 32675.573]							
95% C.I. on Geo. Mean: Inhalation: [.3927, 114.6403]							
Inhalation Rate : 25 Liters/Minute			Number of Records: 71				
<b>Data File: APPLICATOR</b>			Subset Name: TEMP.NAME.APPL				

### SUMMARY STATISTICS FOR CALCULATED DERMAL EXPOSURES

**SCENARIO: Long pants, long sleeves, gloves**

PATCH	DISTRIB.	MICROGRAMS PER KG AI SPRAYED					Obs.
LOCATION	TYPE	Median	Mean	Coef of Var	Geo. Mean		
HEAD (ALL)	Lognormal	858.3444	1942.0731	140.4455	481.9623	53	
NECK.FRONT	Lognormal	31.606	76.417	150.7969	23.0475	44	
NECK.BACK	Lognormal	23.2263	62.4422	149.5685	20.2247	48	
UPPER ARMS	Other	15.4172	142.0216	192.6326	31.7695	47	
CHEST	Lognormal	19.5916	115.8594	181.527	27.7726	51	
BACK	Other	15.6733	108.0534	193.7485	22.9751	51	
FOREARMS	Other	6.9448	40.43	178.4355	11.5404	47	
THIGHS	Lognormal	31.2009	84.9631	225.3248	26.0442	53	
LOWER LEGS	Lognormal	15.7616	33.6492	130.8428	14.5545	43	
FEET						0	
HANDS	Lognormal	3.1461	13.2879	105.2181	3.4687	33	
<b>TOTAL DERM:</b>	635.1098	1020.9121	2619.1969		<b>663.3594</b>		
<b>INHALATION:</b>	Other	6.9391	16.0475	210.5482	<b>6.7095</b>	67	
<b>COMBINED:</b>	642.0489	1027.8512	2635.2444		670.0689		
95% C.I. on Mean: Dermal: [-13267.2392, 18505.633]							
95% C.I. on Geo. Mean: Inhalation: [.3927, 114.6403]							
Inhalation Rate : 25 Liters/Minute			Number of Records: 71				
<b>Data File: APPLICATOR</b>			Subset Name: TEMP.NAME.APPL				

## ANNEXE VI : GRANULE DISPERSIBLE-PULVERISATEUR A JETS PROJETES (LANCE) MONTE SUR UN PICK-UP A 4 ROUES MOTRICES (PHED)

### PHED DATA

Subset Specifications for TEMP.NAME.MLAP

With Application Method Equal to 7 (low pressure hand wand) and

With Solid Type Not Equal to 1 and Not Equal to 2 and Not Equal to 3 and Not Equal to 4

Subset originated from MLAP.FILE

#### SUMMARY STATISTICS FOR CALCULATED DERMAL EXPOSURES

**SCENARIO: Long pants, long sleeves, no gloves**

PATCH LOCATION	DISTRIB. TYPE	Median	Mean	Coef of Var	PER AVERAGE KG AI Geo. Mean	Obs.
HEAD (ALL)	Other	586.7219	1453.7221	136.7049	641.2841	80
NECK.FRONT	Lognormal	45.7285	304.4649	369.6483	41.7819	80
NECK.BACK	Lognormal	37.3466	190.5682	429.9868	32.7481	79
UPPER ARMS	Lognormal	33.404	246.8682	232.934	72.0113	10
CHEST	Other	40.7506	519.1777	185.929	108.1139	10
BACK	Other	40.7506	361.5828	202.4421	91.7711	10
FOREARMS	Other	13.8896	90.4161	267.6492	20.777	10
THIGHS	Other	43.8499	83.8583	115.1859	61.0898	9
LOWER LEGS	Lognormal	27.3201	147.7503	164.3135	66.2784	9
FEET						0
HANDS	Lognormal	212777.289	296912.7662	83.7697	224347.8781	70
<b>TOTAL DERM:</b>	225286.6604	213647.0506	300311.1748		<b>225483.7338</b>	
<b>INHALATION:</b>	Other	57.4872	89.4956	105.042	<b>46.843</b>	80
<b>COMBINED:</b>	225344.1476	213704.5377	300400.6704		225530.5768	
95% C.I. on Mean: Dermal: [-940019.7125, 1540642.0622]						
95% C.I. on Geo. Mean: Inhalation: [2.9013, 756.2973]						
Inhalation Rate : 25 Liters/Minute      Number of Records: 80						
<b>Data File: MIXER/LOADER/APPLICATOR</b> Subset Name: TEMP.NAME.MLAP						

#### SUMMARY STATISTICS FOR CALCULATED DERMAL EXPOSURES

**SCENARIO: Long pants, long sleeves, gloves**

PATCH LOCATION	DISTRIB. TYPE	Median	Mean	Coef of Var	PER AVERAGE KG AI Geo. Mean	Obs.
HEAD (ALL)	Other	586.7219	1453.7221	136.7049	641.2841	80
NECK.FRONT	Lognormal	45.7285	304.4649	369.6483	41.7819	80
NECK.BACK	Lognormal	37.3466	190.5682	429.9868	32.7481	79
UPPER ARMS	Lognormal	33.404	246.8682	232.934	72.0113	10
CHEST	Other	40.7506	519.1777	185.929	108.1139	10
BACK	Other	40.7506	361.5828	202.4421	91.7711	10
FOREARMS	Other	13.8896	90.4161	267.6492	20.777	10
THIGHS	Other	43.8499	83.8583	115.1859	61.0898	9
LOWER LEGS	Lognormal	27.3201	147.7503	164.3135	66.2784	9
FEET						0
HANDS	Other	4.5989	22.9029	252.7287	6.664	10
<b>TOTAL DERM:</b>	943.3812	874.3605	3421.3115		<b>1142.5196</b>	
<b>INHALATION:</b>	Other	57.4872	89.4956	105.042	<b>46.843</b>	80
<b>COMBINED:</b>	1000.8684	931.8477	3510.8071		1189.3627	
95% C.I. on Mean: Dermal: [-18146.6494, 24989.2723]						
95% C.I. on Geo. Mean: Inhalation: [2.9013, 756.2973]						
Inhalation Rate : 25 Liters/Minute      Number of Records: 80						
<b>Data File: MIXER/LOADER/APPLICATOR</b> Subset Name: TEMP.NAME.MLAP						

**ANNEXE VII : GRANULE DISPERSIBLE-PULVERISATEUR A JETS PROJETES (LANCE) MONTE SUR UN PICK-UP A 4 ROUES MOTRICES (EUROPOEM)**

<b>M/L</b>	PDE excl hands in µg/kg a.s.	ADE excl hands in µg/kg a.s.	Protected hands in µg/kg a.s.	Unprotected hands in µg/kg a.s.	Protective gloves in µg/kg a.s.	Potential hands in µg/kg a.s.	Potential dermal in µg/kg a.s.	Actual dermal in µg/kg a.s.	Inhalation in µg/kg a.s.
Number of values	35	12	20	40	15	55	31	8	21
% of BLQ									
A.M.	5 853	21	170	78 730	24 582	63 995	55 635	53	1
ASD	15 561	25	283	234 137	22 676	200 788	133 572	59	1
GM	721	10	33	10 012	13 964	10 983	14 635	25	1
GSD	7	4	8	7	4	6	5	4	3
Max value	83 173	85	1 018	1 340 246	78 571	1 340 246	601 900	154	3
90th percentile	14 824	41	545	87 231	53 762	59 960	56 071	135	2
<b>75th percentile</b>	<b>1 875</b>	<b>36</b>	<b>147</b>	<b>27 774</b>	<b>33 869</b>	<b>30 214</b>	<b>40 635</b>	<b>84</b>	<b>1.4</b>
50th percentile	582	9	28	9 329	21 071	10 733	16 614	24	1
25th percentile	208	4	9	2 435	7 798	3 522	5 184	10	0
Min Value	12	1	0	175	453	175	780	3	0
<b>Appl</b>	PDE excl hands in µg/kg a.s.	ADE excl hands in µg/kg a.s.	Protected hands in µg/kg a.s.	Unprotected hands in µg/kg a.s.	Protective gloves in µg/kg a.s.	Potential hands in µg/kg a.s.	Potential dermal in µg/kg a.s.	Actual dermal in µg/kg a.s.	Inhalation in µg/kg a.s.
Number of values	103	12	11	47	62	109	85	6	89
% of BLQ									
A.M.	245 137	42 619	15 357	31 519	51 544	44 413	271 920	54 093	329
ASD	333 152	44 864	26 414	34 006	106 703	84 591	357 273	49 343	541
GM	111 743	14 797	3 128	15 927	16 926	14 797	139 440	23 271	73
GSD	4	6	7	4	5	6	3	6	7
Max value	2 008 450	126 119	71 512	145 721	644 343	644 343	2 012 155	127 004	2 639
90th percentile	646 736	97 742	64 594	81 265	79 573	99 379	676 023	108 599	1 098
<b>75th percentile</b>	<b>272 585</b>	<b>73 624</b>	<b>10 658</b>	<b>37 124</b>	<b>59 791</b>	<b>45 857</b>	<b>309 605</b>	<b>83 160</b>	<b>356</b>
50th percentile	131 801	26 983	2 223	23 364	14 714	17 568	142 601	51 006	82
25th percentile	48 591	3 664	673	8 124	6 636	7 288	74 900	12 930	11
Min Value	719	1 014	303	551	538	538	2 856	1 425	2

**ANNEXE VIII : MODELE JARDIN – PRESENTATION DE L'ETUDE**

**Evaluation du risque opérateur en jardins amateurs:  
Etude exposition jardin  
--  
Présentation de l'étude**

L'Union des entreprises pour la Protection des Jardins et Espaces verts (UPJ) a financé une étude de mesure d'exposition d'opérateurs utilisant du matériel d'application pour jardins amateurs.

Cette étude a été conduite selon les Bonnes Pratiques de Laboratoire dans le Sud-est de la France pendant l'automne 2003 pour mesurer l'exposition cutanée et par inhalation de jardiniers amateurs pendant différentes tâches de préparation et d'application identifiées comme étant les plus représentatives des activités de traitement en jardin.

Les jardins ont été sélectionnés de façon à ce que les surfaces à traiter soient aussi proches que possible des paramètres définis par la Commission d'Etude de la Toxicité établis sur la base de l'Enquête Jardin ("Jardins en chiffres", UPJ 2004 ; disponible auprès de l'UPJ) et des données d'une enquête INSEE (étude logement 1996/97) et du matériel d'application utilisé par les jardiniers amateurs. Le protocole mis en place a été élaboré en collaboration avec la Commission d'Etude de la Toxicité, commission d'évaluation des risques œuvrant pour la ministère de l'agriculture.

Les tâches étudiées pendant cette étude ont été les suivantes:

- Préparation d'une bouillie à partir d'une:
  - o formulation liquide (EW);
  - o formulation poudre (WP);
- Application de:
  - o liquide prêt à l'emploi (AL) avec pulvérisateur à gâchette (750 mL);
  - o bouillie avec pulvérisateur à pression préalable (5 L) sur:
    - massif et cultures légumières (application basse inférieure à 60 cm)
    - zone non cultivée perméable (application basse inférieure à 60 cm)
    - haie ou arbres plein vent (application haute supérieure à 60 cm)
  - o granulés à la main sur gazon.

Quatre types de formulations ont été utilisés:

- un liquide prêt à l'emploi (AL);
- une émulsion de type aqueux (EW);
- une poudre mouillable (WP);
- un micro granulé (GR).

Un modèle d'évaluation de l'exposition des jardiniers amateurs lors de l'emploi de formulations a été construit sur la base des résultats de cette étude jardin. Une normalisation des valeurs d'exposition en  $\mu\text{L}$  de formulation (ou de bouillie) par tâche a été employée dans tous les cas d'utilisation de liquide. Dans le cas des solides (poudre mouillable ou granulés), la normalisation utilisée est en mg formulation/tâche.

Feuille de saisie des données du modèle (sous excel) - exemple:

Données toxicologiques			Formulation						
Item substance active:	XXX		Type:	WP/SP					
AOEL (Acceptable Operator Exposure Level ou Dose tolérée):	0,020	mg/kg poidjour	Concentration a. dans la formulation:	30	g/kg				
	1,2	mg/jour	Dose homologuée:	750	g/10m <sup>2</sup>				
			Volume de bouillie (minimum) appliqué par surface:	10	L/m <sup>2</sup>				
			Concentration a. dans la bouillie:	0,225	g/litre				
Formulation commerciale			Données de préparation et d'application						
Formulation concentrée (liquide ou solide):	1,00%		Équipement utilisé:	pulvérisateur à pression réglable					
Formulation diluée (bouillie ou AL):	10,00%		Type culture:	Herbes et autres cultures hautes (5-80 cm)					
Evaluation risque (selon les recommandations de la Commission d'Etude de la Toxicité)	Scénario 1: SANS GANTS			Scénario 2: AVEC GANTS (pendant la préparation)			Scénario 3: AVEC GANTS (pendant la préparation et l'application)		
	Exposition ( $\mu\text{g}$ )	Dose absorbée ( $\mu\text{g}$ )	% AOEL	Exposition ( $\mu\text{g}$ )	Dose absorbée ( $\mu\text{g}$ )	% AOEL	Exposition ( $\mu\text{g}$ )	Dose absorbée ( $\mu\text{g}$ )	% AOEL
Exposition par inhalation:	1,40	1,40		1,450	1,450		1,40	1,40	
Exposition cutanée:	919,7	40,19		428,97	41,20		Pas de gants considérés pendant l'application haute	Pas de gants considérés pendant l'application haute	
Exposition totale (inhalation + cutanée):	921	40	3,99%	428,94	42,94	3,99%	Pas de gants considérés pendant l'application haute	Pas de gants considérés pendant l'application haute	

Ce modèle est utilisable pour les types de formulations suivantes : WP, SP, WG, SG, sachet hydrosoluble, liquide (y compris liquide prêt à l'emploi) et granulés prêt à l'emploi.

Trois scénarios d'exposition ont été retenus en fonction du port des gants pour évaluer l'exposition et le risque pour l'opérateur:

**Scénario N°1** : Absence de port de gants pendant la préparation et l'application.

**Scénario N°2** : Port de gants pendant la préparation  
[dans le cas d'une formulation prête à l'emploi (liquide ou granulés) ou d'une formulation conditionnée en sachet hydrosoluble, ce scénario n'existe pas]

**Scénario N°3** : Port de gants pendant la préparation et l'application  
[dans le cas des applications basses sur massif ou sur zone non cultivée, il n'y a pas de données pour ce scénario puisque aucun opérateur ne portait de gants lors de ces applications ; dans le cas des applications hautes, ce scénario n'est pas considéré non plus]

<b>Contact :</b> UPJ Tel : 01.53.69.60.90 Fax : 01.53.69.60.95 59 avenue de Saxe - 75007 PARIS	Stéphanie MARTHON-GASQUET Jacques MY	<a href="mailto:smgasquet@wanadoo.fr">smgasquet@wanadoo.fr</a> <a href="mailto:jacquesmy@wanadoo.fr">jacquesmy@wanadoo.fr</a>
--	---	--



### **3.4. Pyriproxifène : évaluation des risques pour l'homme et l'environnement (juillet 2007)**





CEHTRA  
43 rue Laroque  
33560 Sainte Eulalie  
France

Tel (33) 5 57 77 56 10  
Fax (33) 5 57 77 56 20  
[www.cehtra.fr](http://www.cehtra.fr)

# **PYRIPROXYFÈNE**

## **I-Introduction des évaluations de risques pour l'homme et l'environnement**

**DATE**

**Juillet 2007**

En l'absence de vaccins et de médicaments pour lutter contre la maladie, les mesures visant à réduire les densités de moustiques restent des mesures très efficaces pour limiter la transmission du virus du Chikungunya. L'utilisation de produits larvicides est une des mesures employées à la Réunion. Ce document présente l'évaluation des risques pour l'homme et pour l'environnement liés à l'utilisation du pyriproxifène pour limiter la transmission du virus du Chikungunya. Le pyriproxifène est une substance larvicide susceptible d'être utilisée dans le cadre de futures campagnes de lutte antivectorielle à la Réunion.

Afin de réduire significativement la propagation du virus dans la population, et en l'absence de prophylaxie médicamenteuse spécifique du Chikungunya, il est primordial d'agir contre les pullulations locales du vecteur, le moustique *Aedes albopictus*. Du fait de l'efficacité limitée des insecticides tant dans le temps que dans l'espace, la lutte doit cibler la réduction des gîtes de ce moustique vecteur. Un gîte est un lieu de ponte qui assure le bon développement des larves jusqu'à l'émergence de l'adulte. Ces gîtes sont obligatoirement constitués d'eau stagnante.

Les utilisations de larvicides pour lutter contre le vecteur du Chikungunya à la Réunion s'effectuent essentiellement en milieu naturel et se restreignent aux ravines et parcs présents en milieux urbains (DRASS Réunion, 2006a). L'utilisation de larvicides n'est recommandée qu'en cas d'absence de pluie, voire en cas de pluie très légère. Le traitement mécanique des gîtes, qui est le mode de démoustication à toujours privilégier surtout après un grand épisode de pluie, peut être effectué par tout temps. Il en est de même pour les opérations de nettoyage de fond de cours. De manière générale, les flaques d'eau résiduelles sur sol imperméable et sur gazon plat ne doivent pas être traitées par produit biologique (DRASS Réunion, 2006b).

Les évaluations réalisées prennent en compte l'utilisation du pyriproxifène pour traiter les principaux gîtes productifs rencontrés à l'intérieur ou aux alentours des villes de la Réunion, à savoir les ravines, les étangs, les mares, les bassins et les points d'eau stagnante de taille respectable présents dans les champs de canne ; les flaques d'eau résiduelles sur sol imperméable ne pouvant être traitées.

Le pyriproxifène est un insecticide aromatique non terpénoïde qui mime les hormones juvéniles et interfère avec le développement des insectes. Il est largement utilisé comme larvicide.

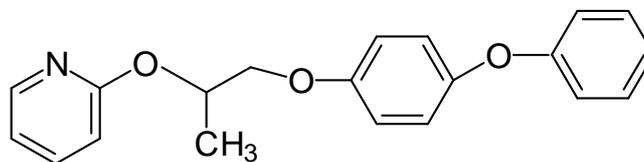


Figure I-1. Structure du pyriproxifène

Cette évaluation simplifiée des risques pour l'homme et l'environnement liés à l'utilisation du pyriproxyfène dans le cadre de la lutte contre le vecteur du Chikungunya à la Réunion consiste à évaluer les doses de substance active entraînant des effets toxiques pour l'homme et pour les différents compartiments environnementaux pertinents et de les comparer aux doses d'exposition de l'homme et de l'environnement pendant les phases d'application. Ces doses d'exposition seront estimées à partir des conditions d'utilisation prédites de produits contenant du pyriproxyfène à la Réunion pour limiter la transmission du virus du Chikungunya.

Dans le cadre de la lutte contre les moustiques, vecteurs d'arbovirose, des essais d'efficacité sur le pyriproxyfène vont être conduits en partenariat avec l'AFSSET, au cours desquels la formulation suivante sera utilisée :

Nom commercial	Substance active	Type de formulation	Dose recommandée
SUMILARV® 0.5 G	0,5% (m/m)	granulés (GR)	5-10 g s.a./ha de manière usuelle; 100 g s.a./ha pour les eaux particulièrement infestées

La dose recommandée est de 5 à 10 g de substance active/ha, mais toutefois des doses de 100 g/ha peuvent être utilisées dans le cas d'une eau particulièrement chargée. La durée d'efficacité est de 6 semaines. Deux applications sont recommandées pour obtenir une efficacité maximale. Les campagnes de lutte contre le Chikungunya à la Réunion sont susceptibles d'être menées tout au long de l'année. En effet, dans cette région, les conditions climatiques sont telles qu'il n'existe pas de période de non reproduction des moustiques prévisible dans l'année. On estime à deux le nombre d'applications maximal du produit sur un même site, en raison de l'efficacité supposée du produit, du contrôle et de la maîtrise des campagnes de traitement et de la possible utilisation d'autres solutions de traitement (autres matières actives de type larvicide ou utilisation de matières actives de type adulticide) sur un même site (WHO, 2000 ; WHO, IRD, 2006).

Les évaluations suivantes ont été réalisées en considérant la dose maximale de 100 g/ha appliquée dans des habitats particulièrement infestés, car susceptible d'entraîner l'exposition de l'homme et de l'environnement la plus importante. Les scénarios prennent en compte un intervalle de 6 semaines entre les 2 applications, en raison de la durée d'efficacité du produit.

Le type d'équipement d'application qui peut être utilisé pour ces applications de granulés est limité : il s'agit de petits appareils portés qui dispersent les granulés de façon plus ou moins homogène. Ces équipements d'application sont peu utilisés pour appliquer les produits phytopharmaceutiques, à l'exception des engrais/désherbants sélectifs sur gazon.

Les applications manuelles seront aussi envisagées.

Cette évaluation des risques est une évaluation simplifiée des risques. Les sources de documentation sont des synthèses de documents de revue préalablement rédigées par des organismes officiels. Les rapports d'étude primaires n'ont pas été revus par les rédacteurs de ce document.

## LISTE DES REFERENCES

- DRASS Réunion, Note technique de la Direction Régionale des affaires sanitaires et sociales de la Préfecture de la Réunion sur la « stratégie et moyens de lutte pour le traitement des gîtes productifs » 2006a.
- DRASS Réunion, « Note relative aux traitements de lutte antivectorielle en fonction des conditions météorologiques. » de la Direction Régionale des affaires sanitaires et sociales de la Préfecture de la Réunion, 19 février 2006b.
- WHO Report of the fourth WHOPES working group meeting. Review of IR3535 ; KBR3023 ; (RS)-Methoprene 20% EC, Pyriproxyfen 0.5% GR; and Lambda-Cyhalothrin 2.5% CS, 2000.
- WHO, IRD: Communication personnelle avec des représentants en charge de la lutte antivectorielle de ces deux organismes (Organisation Mondiale de la Santé et Institut de Recherche pour le Développement), Novembre 2006.



CEHTRA  
43 rue Laroque  
33560 Sainte Eulalie  
France

Tel (33) 5 57 77 56 10  
Fax (33) 5 57 77 56 20  
[www.cehtra.fr](http://www.cehtra.fr)

# **PYRIPROXYFÈNE**

## **II-Propriétés physico-chimiques**

### **Evaluation du risque pour l'environnement**

**Calculs des concentrations  
prévisibles dans l'environnement  
lors de l'utilisation de SUMILARV® 0,5 G  
à l'Île de la Réunion**

**DATE**

**Juillet 2007**

---

**TABLE DES MATIERES**

<b>1. INTRODUCTION.....</b>	<b>320</b>
<b>2. substance Active .....</b>	<b>320</b>
2.1. Nom commun.....	320
2.2. Dénomination chimique.....	320
2.3. N°CEE et/ou n°CAS .....	321
2.4. Formule moléculaire et formule structurale développée (avec tous les détails relatifs à une éventuelle composition isomérique) ; masse molaire.....	321
2.5. Origine et mode d'action biologique .....	322
<b>3. Propriétés physiques et chimiques de la FORMULATION étudiée ....</b>	<b>322</b>
3.1. Teneur en Substance active .....	322
3.2. coformulants.....	323
3.3. Propriétés physiques .....	323
3.3.1. Taille nominale	323
3.3.2. Poussières	323
3.3.3. Résistance à l'attrition	323
3.3.4. Stabilité au stockage	323
<b>4. Propriétés physiques et chimiques de la substance active.....</b>	<b>323</b>
4.1. Point de fusion, point d'ébullition, densité relative .....	323
4.2. Pression de vapeur (en Pa) .....	324
4.3. Aspect (état physique, couleur).....	324
4.4. Spectres d'absorption (UV/VIS, IR, RMN), et spectrométrie de masse, extinction moléculaire aux longueurs d'onde adéquates, le cas échéant.....	324
4.5. Solubilité dans l'eau, notamment influence du pH (5 à 9) et de la température sur la solubilité, le cas échéant .....	324
4.6. Coefficient de partage n-octanol/eau, y compris influence du pH (5 à 9) et de la température.....	325
4.7. Stabilité thermique, identité des produits de dégradation correspondants .....	325
4.8. Inflammabilité, y compris auto-inflammabilité et identité des produits de combustion .....	325
4.9. Point d'éclair .....	325
4.10. Tension superficielle.....	325
4.11. Propriétés explosives .....	325
4.12. Propriétés oxydantes .....	326
4.13. Réactivité à l'égard des matériaux du récipient .....	326
<b>5. Devenir et comportement dans l'environnement.....</b>	<b>327</b>
5.1. Dégradation.....	327
5.1.1. Biotique	327

5.1.1.1.	Dégradation dans le sol en conditions aérobies	327	
5.1.1.2.	Dégradation dans le sol en conditions anaérobies		330
5.1.1.3.	Risque d'accumulation	330	
5.1.1.4.	Photodégradation dans le sol	330	
5.1.1.5.	Métabolisme aquatique en conditions aérobies	330	
5.1.1.6.	Métabolisme aquatique en conditions anaérobies		334
5.1.1.7.	Biodégradabilité facile	334	
5.1.1.8.	Biodégradabilité intrinsèque, le cas échéant		334
5.1.2.	Abiotique	334	
5.1.2.1.	Hydrolyse en fonction du pH et identification du ou des produits de la dégradation		334
5.1.2.2.	Phototransformation dans l'eau, y compris identité des produits de la transformation		334
<b>5.2.</b>	<b>EssaiS d'adsorption/désorption</b>		<b>335</b>
5.2.1.	Etudes d'adsorption/désorption	335	
5.2.2.	Autres études	336	
<b>5.3.</b>	<b>Devenir et comportement dans l'air</b>		<b>336</b>
<b>6.</b>	<b>Evaluation du risque pour l'environnement et calculs de CPE</b>		<b>338</b>
<b>6.1.</b>	<b>Voie et vitesse de dégradation dans l'air – CPE (air)</b>		<b>338</b>
<b>6.2.</b>	<b>Voie et vitesse de dégradation dans l'eau</b>		<b>338</b>
6.2.1.	Devenir dans les eaux de surface	338	
6.2.2.	Devenir dans les eaux souterraines	343	
<b>6.3.</b>	<b>Voie et vitesse de dissipation dans les sédiments</b>		<b>343</b>
6.3.1.	Méthode de calcul	343	
6.3.2.	Paramètres considérés	344	
6.3.3.	Résultats	345	
<b>6.4.</b>	<b>Voie et vitesse de dégradation dans le sol</b>		<b>346</b>
<b>6.5.</b>	<b>Devenir en milieu marin et estuarien</b>		<b>346</b>
<b>7.</b>	<b>CONCLUSION</b>		<b>349</b>

---

## 1 INTRODUCTION

---

Ce document présente les propriétés physico-chimiques de la préparation SUMILARV® 0,5 G à base de pyriproxyfène susceptible d'être utilisée à l'Île de la Réunion dans le cadre de la lutte antivectorielle (LAV) contre le Chikungunya (traitements larvicides, voir section 1 - Introduction des évaluations de risques pour l'homme et l'environnement) ainsi qu'une évaluation des risques pour l'environnement : risque d'accumulation des substances et produits testés, et risque pour le consommateur par l'intermédiaire d'eau potable potentiellement contaminée.

Cette évaluation est basée sur des données issues de plusieurs sources documentaires. Les résultats d'évaluations conduites par des experts d'organismes réglementaires ont été considérés en priorité. C'est le cas notamment de l'évaluation européenne des substances actives phytosanitaires conduite dans le cadre de la directive 91/414/CEE pour laquelle les sociétés souhaitant autoriser leurs substances actives doivent soumettre un dossier d'homologation. A l'issue de cette évaluation, un document public d'évaluation appelé monographie ou « Draft Assessment Report » (DAR) est rendu public. Le DAR est validé par les états membres et l'EFSA (European Food Safety Authority : Agence Européenne de Sécurité Alimentaire). A cette occasion, un certain nombre de points finaux (« end-points ») ont été définis, et sont utilisés au niveau national pour l'évaluation des produits de protection des plantes. D'autres données ont été extraites à l'occasion de revues des substances par des organismes réglementaires des états membres (voir l'évaluation du PSD (Pesticides Safety Directorate) du Royaume-Uni (PSD, 1996), base de données française AGRITOX (AFSSA, 2000) ...).

Etant donné qu'il existe une revue récente du pyriproxyfène (novembre 2005) dans le cadre de la directive 91/414/CEE (DAR, 2005), ces données seront prises par défaut quand elles sont disponibles car elles sont considérées comme les plus pertinentes pour l'évaluation. Le DAR est disponible publiquement, mais, cependant, les études ayant servi à cette évaluation n'ont pas été consultées. Elles pourront l'être en cas d'ambiguïté dans le cadre d'une évaluation affinée des risques.

---

## 2 SUBSTANCE ACTIVE

---

---

### 2.1 NOM COMMUN

---

Pyriproxyfène

---

### 2.2 DENOMINATION CHIMIQUE

---

Nom CAS : 2-[1-méthyl-2-(4-phénoxyphénoxy)éthoxy]-pyridine  
Nom IUPAC : 4-Phénoxyphényl (RS)-2-(2-pyridyloxy)propyl éther

---

**2.3 N°CEE ET/OU N°CAS**

---

N°CAS : 95737-68-1

N°ELINCS : 94-04-069500

N°CIPAC : 715

---

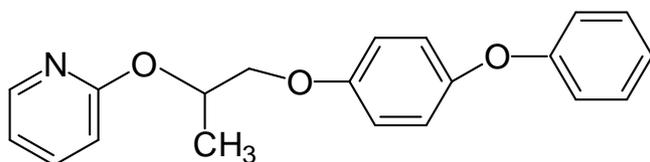
**2.4 FORMULE MOLECULAIRE ET FORMULE STRUCTURALE DEVELOPPEE (AVEC TOUS LES DETAILS RELATIFS A UNE EVENTUELLE COMPOSITION ISOMERIQUE) ; MASSE MOLLAIRE**

---

Formule moléculaire :  $C_{20}H_{19}NO_3$ 

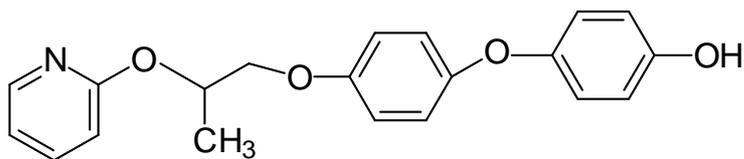
Masse molaire : 321,37 g/mol

Formule structurale développée :

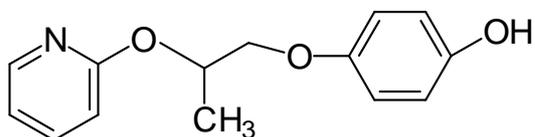


Les formules structurales développées des produits de dégradation significatifs cités dans le document sont les suivantes :

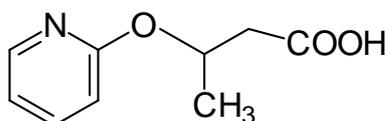
4'-OH-Pyr (4'-OH-pyriproxyfène)



DPH-Pyr (DPH-pyriproxyfène)



PYPAC ( (RS)2-(2-pyridiloxy)propionic acid )



---

## 2.5 ORIGINE ET MODE D'ACTION BIOLOGIQUE

---

Le pyriproxifène est un dérivé synthétique fenoxycarb, dans lequel une partie de la chaîne aliphatique a été remplacée par du pyridyl oxyéthylène.

Chez les insectes, contrairement aux vertébrés, deux hormones seulement sont en général utilisées pour la régulation du développement et de la mue :

- l'hormone juvénile (un terpénoïde),
- l'ecdysone, ou hormone de mue (un stéroïde).

L'ecdysone déclenche la mue, phase cruciale du développement des arthropodes, et l'hormone juvénile contrôle si cette mue va être une mue larvaire, une mue qui conduit à la nymphe ou une mue qui conduit à l'adulte ou *imago*. De plus l'hormone juvénile commande la plupart des mécanismes physiologiques liés à la reproduction, (gamétogénèse, vitellogénèse ou comportement sexuel).

La présence d'ecdysone couplée à l'absence d'hormone juvénile entraîne un développement précoce de la larve au stade adulte, sans que l'insecte n'ait subi toutes les phases de son développement. Des taux anormaux d'hormone juvénile résultent souvent en une mort de la larve, en raison d'un dérèglement de son développement.

Le pyriproxifène est un analogue d'hormone juvénile. Les analogues d'hormone juvénile possèdent des ressemblances avec les hormones juvéniles et leur plus grande stabilité chimique leur permet de se fixer préférentiellement aux récepteurs de l'hormone juvénile. Le pyriproxifène mime l'action des hormones juvéniles et interfère avec l'embryogénèse, la métamorphose et la formation de l'adulte chez les insectes (Sullivan, 2000).

---

## 3 PROPRIETES PHYSIQUES ET CHIMIQUES DE LA FORMULATION ETUDIEE

---

---

### 3.1 TENEUR EN SUBSTANCE ACTIVE

---

La teneur en substance active (s.a.) de la formulation SUMILARV® 0,5 G (granulé, code GIFAP GR) est :

- 5 g/kg de pyriproxifène +/- 0,75 g/kg.(spécifications OMS ; WHO, 2006)

Le degré de pureté et la nature des impuretés de la substance active constitutive du produit larvicide susceptible d'être utilisé dans le cadre de la LAV à la Réunion n'ont pas été rendus connus. Néanmoins, les évaluations de la substance active effectuées par l'OMS (Organisation Mondiale de la Santé) et par les états membres européens tiennent compte du degré de pureté de la substance ainsi que des éventuelles impuretés pour tirer leur conclusion pour les différents points finaux considérés. Ainsi, la présente évaluation présente les résultats pour la substance active avec une composition typique requise pour la commercialisation, comme la substance active qui devrait être utilisée dans le produit larvicide.

---

## 3.2 COFORMULANTS

---

La nature des coformulants entrant dans la composition de la formulation SUMILARV® 0,5 G n'étant pas disponible aux rédacteurs de ce document, l'impact de ces composés sur l'homme et l'environnement n'a pas été estimé.

---

## 3.3 PROPRIETES PHYSIQUES

---

### 3.3.1 Taille nominale

La taille nominale des granulés est comprise entre 300 et 1 000 µm, avec plus de 85 % en masse des granulés compris dans cet intervalle (WHO, 2006).

### 3.3.2 Poussières

Méthode CIPAC MT171 : teneur en poussière < 0,1% (m/m) (essentiellement non pulvérulent) (WHO, 2006).

### 3.3.3 Résistance à l'attrition

Méthode CIPAC MT 178 : la résistance minimale à l'attrition est de 98 % (m/m) (WHO, 2006).

### 3.3.4 Stabilité au stockage

Les granulés de pyriproxifène sont stables pendant 2 ans dans les conditions normales de température de stockage, lorsque entreposés dans des conteneurs fermés (WHO, 2006).

---

## 4 PROPRIETES PHYSIQUES ET CHIMIQUES DE LA SUBSTANCE ACTIVE

---

---

### 4.1 POINT DE FUSION, POINT D'EBULLITION, DENSITE RELATIVE

---

Point de fusion : 48-50 °C (DAR, 2005)  
Point d'ébullition : 318 °C (DAR, 2005)  
Densité relative : 1,26 g/cm<sup>3</sup> à 23 °C (DAR, 2005)

En accord avec les données des organismes suivants : WHO, 2005 ; IPCS INCHEM, 1999 ; Pesticide Manual, 2006 ; PSD, 1996.

---

## 4.2 PRESSION DE VAPEUR (EN PA)

---

Pression de vapeur :

<  $1,33 \cdot 10^{-5}$  Pa à 23°C (DAR, 2005)

Constante de Henry :

<  $1,16 \cdot 10^{-5}$  Pa.m<sup>3</sup>.mol<sup>-1</sup> à 22 - 25°C. Ce composé est donc peu volatil (DAR, 2005).

---

## 4.3 ASPECT (ETAT PHYSIQUE, COULEUR)

---

Etat physique :

- Granulé solide (DAR, 2005)

Couleur :

- Blanc à blanc jaunâtre (DAR, 2005)

---

## 4.4 SPECTRES D'ABSORPTION (UV/VIS, IR, RMN), ET SPECTROMETRIE DE MASSE, EXTINCTION MOLECULAIRE AUX LONGUEURS D'ONDE ADEQUATES, LE CAS ECHEANT

---

Spectres UV/vis (DAR, 2005) :

- En solution d'éthanol (0,01 mg/mL), les coefficients d'absorption molaire sont de  $6,91 \cdot 10^3$  L mol<sup>-1</sup>.cm<sup>-1</sup>, à 271,6 nm.
- En solution eau/méthanol (10:90 v/v) :
  - A pH acide :  $\lambda = 278$  nm,  $\epsilon = 10\,354$  L.mol<sup>-1</sup>.cm<sup>-1</sup>
  - A pH neutre :  $\lambda = 271$  nm,  $\epsilon = 6\,649$  L.mol<sup>-1</sup>.cm<sup>-1</sup>
  - A pH basique :  $\lambda = 271$  nm,  $\epsilon = 6\,749$  L.mol<sup>-1</sup>.cm<sup>-1</sup>

Les spectres IR, <sup>1</sup>H-RMN et spectres de masse ont été également déterminés (non détaillés).

Le pyriproxifène absorbe de la lumière dans la région du visible et donc peut être amené à réagir photochimiquement lors d'exposition aux rayonnements naturels.

---

## 4.5 SOLUBILITE DANS L'EAU, NOTAMMENT INFLUENCE DU PH (5 A 9) ET DE LA TEMPERATURE SUR LA SOLUBILITE, LE CAS ECHEANT

---

Solubilité dans l'eau : 0,367 mg/L à 25 °C et pH 6. Peu soluble dans l'eau (DAR, 2005).

Les solubilités suivantes dans les solvants organiques ont été déterminées (DAR, 2005) :

- n-heptane : 25-29 g/L
- 1,2-dichloroéthane : > 1 000 g/L
- méthanol : 25-29 g/L
- acétone : > 1 000 g/L
- p-xylène : > 1 000 g/L

---

- acétate d'éthyle : > 1 000 g/L

---

#### **4.6 COEFFICIENT DE PARTAGE N-OCTANOL/EAU, Y COMPRIS INFLUENCE DU PH (5 A 9) ET DE LA TEMPERATURE**

---

log P = 5,37 à 25 °C et pH 5 (DAR, 2005).

Il est noté une partition élevée (log P >3) dans les solvants lipophiles et ainsi une possibilité de bioaccumulation importante (DAR, 2005).

---

#### **4.7 STABILITE THERMIQUE, IDENTITE DES PRODUITS DE DEGRADATION CORRESPONDANTS**

---

Jusqu'au point d'ébullition (318 °C), aucune décomposition n'a été observée sous atmosphère d'azote (DAR, 2005).

---

#### **4.8 INFLAMMABILITE, Y COMPRIS AUTO-INFLAMMABILITE ET IDENTITE DES PRODUITS DE COMBUSTION**

---

Le pyriproxifène est non inflammable (PSD, 1996).

Auto inflammabilité : > 400 °C (DAR, 2005).

Pas de danger lorsque la substance est en contact avec l'eau (DAR, 2005).

La décomposition du pyriproxifène produit des molécules constituées d'oxydes d'azote et de monoxyde de carbone. (IPCS INCHEM, 1999).

---

#### **4.9 POINT D'ECLAIR**

---

Le point d'éclair est de 119 °C (PSD, 1996).

---

#### **4.10 TENSION SUPERFICIELLE**

---

Non requis puisque la solubilité dans l'eau est <1 mg/L.

---

#### **4.11 PROPRIETES EXPLOSIVES**

---

Non explosif (DAR, 2005).

---

#### **4.12 PROPRIETES OXYDANTES**

---

Non oxydant (DAR, 2005).

---

#### **4.13 REACTIVITE A L'EGARD DES MATERIAUX DU RECIPIENT**

---

Pas de réactivité de la substance active à l'égard des matériaux de récipient de type HDPE (Polyéthylène à haute densité) (DAR, 2005).

---

## 5 DEVENIR ET COMPORTEMENT DANS L'ENVIRONNEMENT

---

Considérant que les granulés se délitent rapidement après épandage (communication personnelle avec des membres de l'Institut de Recherche pour le Développement (IRD) en charge de la lutte antivectorielle, 2006), pour les données relatives au devenir et au comportement dans l'environnement du SUMILARV® 0,5 G, les données de la substance active ont été utilisées pour évaluer l'impact et le devenir de cette formulation dans l'environnement.

Les données présentées ci-dessous sont majoritairement des données issues d'études de laboratoires dans des conditions contrôlées. Les extrapolations aux conditions d'utilisation dans l'Île de la Réunion seront indiquées lorsque cela sera nécessaire ou lorsque cela pourra modifier de façon significative les évaluations de risque ou les calculs proposés de CPE (Concentration Prévisible dans l'Environnement).

---

### 5.1 DEGRADATION

---

#### 5.1.1 Biotique

##### 5.1.1.1 Dégradation dans le sol en conditions aérobies

L'évaluation du devenir dans l'environnement des substances actives est en général conduite sur de la substance active purifiée et si possible radiomarquée. Des études complémentaires peuvent être effectuées quand la substance active formulée laisse présager des propriétés environnementales différentes (dissipation, photolyse, hydrolyse, adsorption etc..). Dans le cas présent, cela n'est pas jugé nécessaire.

L'évaluation du pyriproxifène par l'Agence de réglementation de la lutte antiparasitaire du Canada (ARLA, 2001) indique que la transformation du pyriproxifène a été relativement rapide dans les sols en conditions aérobies. Son mode de disparition est caractérisé par un déclin rapide de la concentration dans les 30 premiers jours, suivi d'une diminution graduelle. Dans des sols de type limono sableux, le pyriproxifène s'est dégradé avec une  $DT_{50}$  de 6 à 10 jours, ce qui indique que le pyriproxifène est non persistant dans les sols en conditions aérobies (Goring *et al.*, 1975). Trois produits de transformation mineurs du pyriproxifène ont été identifiés :

- le 4'-OH-Pyr ou oxyde de 4-(4-hydroxyphénoxy)phényle (*RS*)-2-(2-pyridyloxy)propyle,
- le DPH-Pyr ou oxyde de 4-hydroxyphényle (*RS*)-2-(2-pyridyloxy)propyle,
- le PYPAC ou acide (*RS*)-2-(2-pyridyloxy)propionique.

Cinq études sont disponibles et ont été évaluées avec les résultats suivants :

Tableau II.1 : Dégradation aérobie du pyriproxyfène dans le sol en conditions de laboratoire (données du DAR)

Etude/Classe texturale	DT <sub>50</sub> s.a. DT <sub>90</sub> s.a. à 20 °C	Métabolites majeurs formés	DT <sub>50</sub> métabolite (jours) DT <sub>90</sub> métabolite (jours)
<b>Etude n°1</b> 1 sol sablo limoneux	Cinétique du 1 <sup>er</sup> ordre : DT <sub>50</sub> = 12 jours DT <sub>90</sub> = 42 jours	PYPAC : max 6,3 % RA* après 14 jours <sup>a</sup>	Non calculées
<b>Etude n°2</b> 1 sol limono sableux	Cinétique du 1 <sup>er</sup> ordre : DT <sub>50</sub> = 25 jours DT <sub>90</sub> = 81 jours	aucun	Non pertinent
<b>Etude n°3</b> 1 sol sablo limoneux	Cinétique du 1 <sup>er</sup> ordre : DT <sub>50</sub> = 14 jours DT <sub>90</sub> = 49 jours	PYPAC : max 7,6 % RA* après 14 jours 4'-OH-Pyr : max 6,3 % RA* après 14 jours	Cinétiques du 1 <sup>er</sup> ordre : DT <sub>50</sub> / DT <sub>90</sub> (jours) <b>PYPAC</b> : 36 / 118 <b>4'-OH-Pyr</b> : 70 / 234
<b>Etude n°4</b> 4 sols - 1 : sablo limoneux - 2 : sablo limoneux - 3 : limoneux - 4 : limon argileux	Cinétique du 1 <sup>er</sup> ordre : DT <sub>50</sub> / DT <sub>90</sub> (jours) : Sol 1 : 4,4 / 15 Sol 2 : 6,1 / 20 Sol 3 : 3,7 / 12 Sol 4 : 2,8 / 9,2	PYPAC : max 8,6 % RA 4'-OH-Pyr : max 6,2 % RA	Cinétique du 1 <sup>er</sup> ordre : <b>PYPAC</b> : non calculées <b>4'-OH-Pyr</b> : 3 sols DT <sub>50</sub> / DT <sub>90</sub> (jours) : Sol 1 : 28 / 92 Sol 3 : 24 / 78 Sol 4 : 30 / 98
<b>Etude n°5</b>		PYPAC	Cinétique du 1 <sup>er</sup> ordre selon FOCUS kinetics : <b>PYPAC</b> : DT <sub>50</sub> / DT <sub>90</sub> (jours) : sablo limoneux: 37 / 123 sablo limoneux: 21 / 70 sablo limoneux: 0,4 / 1,3

\* radioactivité appliquée

<sup>a</sup> : valeurs considérées comme sous-estimées par le rapporteur du dossier

Les DT<sub>50</sub> (temps de dissipation de 50 % de la quantité de la substance active) de la substance active sont comprises entre 2,8 et 25 jours (à 20 °C) et les DT<sub>90</sub> (temps de dissipation de 90 % de la quantité de la substance active) entre 9,2 et 81 jours. Les DT<sub>50</sub> des métabolites 4'-OH-Pyr et PYPAC sont comprises respectivement entre 24 et 70 jours, et entre 0,4 et 37 jours.

Dans toutes les études, les courbes de dégradation du pyriproxyfène ont montré un point d'inflexion.

Le schéma métabolique du pyriproxyfène dans les sols est le suivant (figure II.1) :

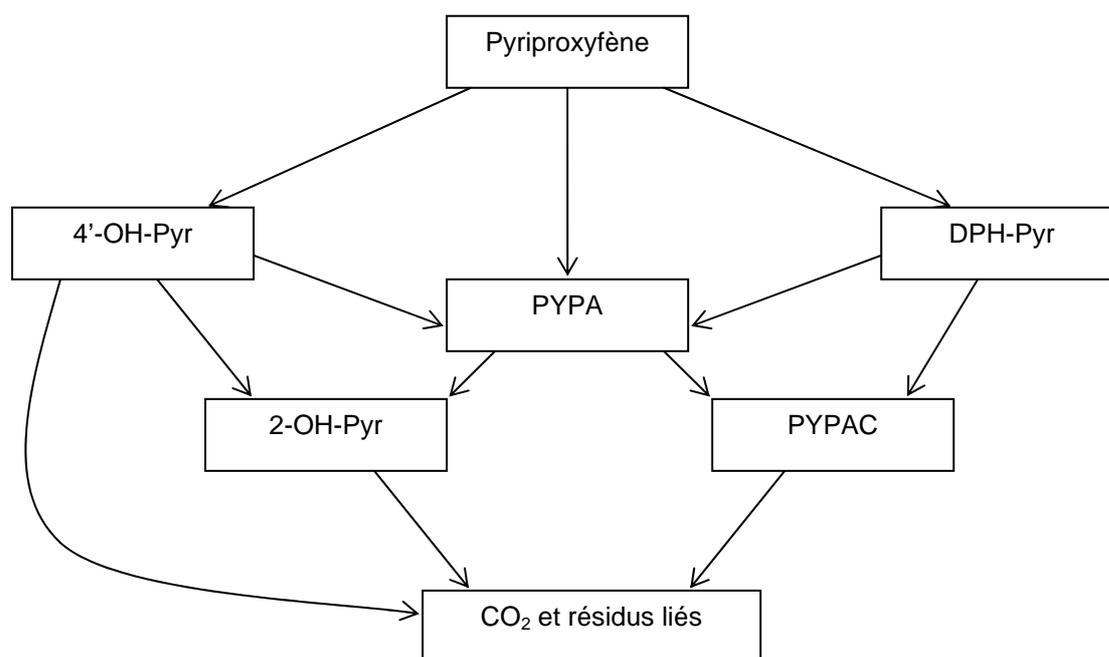


Figure II.1: Dégradation du pyriproxifène dans le sol en conditions aérobies

Des études additionnelles ont été conduites en conditions de plein champ. Les principaux résultats sont présentés dans le tableau suivant.

Tableau II.2 : Dégradation aérobie du pyriproxifène dans le sol (champ)

	<b>DT<sub>50</sub> s.a.</b> <b>DT<sub>90</sub> s.a.</b>	<b>Métabolites majeurs formés</b>	<b>DT<sub>50</sub> métabolite (jours)</b> <b>DT<sub>90</sub> métabolite (jours)</b>
<b>Etude n°1</b> Greenville, Mississippi, Etats- Unis	Cinétique du 1 <sup>er</sup> ordre : DT <sub>50</sub> = 3,5 jours DT <sub>90</sub> = 12 jours	Aucun (< LQ) *	Non pertinent
<b>Etude n°2</b> Ephrata, Washington, Etats- Unis	Cinétique du 1 <sup>er</sup> ordre : DT <sub>50</sub> = 5,9 jours	Aucun *	Non pertinent
<b>Etude n°3</b> Lyons, NY, Etats- Unis	Cinétique du 1 <sup>er</sup> ordre : DT <sub>50</sub> / DT <sub>90</sub> (jours) : Rapporteur : 8,3 / 28	Aucun (< LQ) *	Non pertinent

\* limite de quantification : problèmes de stabilité au stockage pour le métabolite 4'-OH-Pyr

Ces valeurs sont cohérentes avec les valeurs obtenues en laboratoire. Cependant, les conditions climatiques à la Réunion ne sont pas équivalentes, avec des températures et une humidité supérieures. Ces conditions pourraient entraîner une dégradation plus rapide de la substance active et peuvent être considérées comme « pire cas ».

#### 5.1.1.2 Dégradation dans le sol en conditions anaérobies

Pas de donnée disponible. N'est pas une donnée critique dans les conditions d'utilisation à la Réunion.

#### 5.1.1.3 Risque d'accumulation

Etant données les vitesses de dissipation, on peut considérer qu'il n'y a pas de risque d'accumulation dans le sol.

#### 5.1.1.4 Photodégradation dans le sol

Une étude de photodégradation a été conduite à 25 °C (DAR, 2005) utilisant un limon sableux avec comme substance test du pyriproxifène radiomarké sur deux sites (phényl et pyridyle) et irradié à l'aide d'une lampe au xénon. Le métabolite PYPAC a été le produit de photolyse majeur (maximum de 13,1 % de la radioactivité appliquée au jour 10), les autres produits de dégradation étant formés à moins de 5 %. La valeur moyenne des DT<sub>50</sub> calculées pour les 2 études utilisant un radiomarkage différent a été de 11 jours (correspondant à une DT<sub>90</sub> moyenne de 37 jours).

#### 5.1.1.5 Métabolisme aquatique en conditions aérobies

Une étude a été conduite en laboratoire en utilisant deux systèmes eau/sédiment (étang et lac), à 20 °C et dans l'obscurité (DAR, 2005). Les métabolites formés ainsi que les DT<sub>50</sub> calculées par le rapporteur du dossier (DAR, 2005) sont présentés dans le tableau suivant.

Tableau II.3 : Dégradation du pyriproxyfène en système eau/sédiments (DAR)

	<b>Etang</b> (Mill)	<b>Lac</b> (Emperor)
<b>Substance active</b>	Maximum dans le sédiment : 48,5 % (à t = 2 jour) Cinétique du 1 <sup>er</sup> ordre : DT <sub>50</sub> * : Eau : 1,7 jour Sédiments : 30,6 jours Système total : 5,4 jours	Maximum dans le sédiment : 46,2 % (à t = 2 jours) Cinétique du 1 <sup>er</sup> ordre : DT <sub>50</sub> * : Eau : 1,4 jour Sédiments : 37,7 jours Système total : 7,8 jours
<b>4'-OH-Pyr</b>	Maximum dans l'eau : 4,8 % (à t = 1 jour) Maximum dans le sédiment : 14,8 % (à t = 7 jours) Cinétique du 1 <sup>er</sup> ordre : DT <sub>50</sub> * : Eau : 2,4 jours Sédiments : 21,5 jours Système total : 21,6 jours	Maximum dans l'eau : 3,0 % (à t = 2 jours) Maximum dans le sédiment : 9,8 % (à t = 14 jours) Cinétique du 1 <sup>er</sup> ordre : DT <sub>50</sub> * : Eau : non calculée Sédiments : 41,5 jours Système total : 37,2 jours
<b>PYPAC</b>	Maximum dans l'eau : 6,8 % (à t = 50 jours) Maximum dans le sédiment : 4,3 % (à t = 50 jours) Cinétique du 1 <sup>er</sup> ordre : DT <sub>50</sub> : Eau : non calculée Sédiments : non calculée Système total : non calculée	Maximum dans l'eau : 23,6 % (à t = 100 jours) Maximum dans le sédiment : 7,6 % (à t = 100 jours) Cinétique du 1 <sup>er</sup> ordre : DT <sub>50</sub> : Eau : non calculée Sédiments : non calculée Système total : non calculée
<b>DPH-Pyr</b>	Maximum dans l'eau : 4,2 % (à t = 7 jours) Maximum dans le sédiment : 4,3 % (à t = 7 jours) Cinétique du 1 <sup>er</sup> ordre : DT <sub>50</sub> ** : Eau : < 43 jours Sédiments : non calculée Système total : non calculée	Maximum dans l'eau : 11,8 % (à t = 2 jours) Maximum dans le sédiment : 3,2 % (à t = 50 jours) Cinétique du 1 <sup>er</sup> ordre : DT <sub>50</sub> ** : Eau : < 12 jours Sédiments : non calculée Système total : non calculée

\* moyenne des 2 radiomarquages

\* détermination graphique ; maximum des 2 radiomarquages

Une étude eau/sédiment complémentaire a été conduite avec les métabolites 4'-OH-Pyr et PYPAC, à 20 °C et à l'obscurité, dans les mêmes systèmes que précédemment.

Le 4'-OH-Pyr a été retrouvé dans la phase sédiment à un maximum de 48,7 % RA (jour 1, étang) et 10,6 % RA (jour 14, lac).

Le PYPAC a été retrouvé dans le sédiment à des maximums de 31,2 % RA (jour 3, étang) et 13,4 % RA (jour 7, lac).

Les métabolites 4'-OH-Pyr et PYPAC ont été dégradés en plusieurs métabolites mineurs ; le DPH-Pyr a été retrouvé à des maximums de 6,0 % et 5,0 % dans l'eau et 4,2 % et 4,6 % dans le sédiment (incubation du 4'-OH-Pyr seulement).

Les DT<sub>50</sub> ont été calculées selon une cinétique du premier ordre ou graphiquement. En ne considérant pas le point d'inflexion des courbes de dégradation, les DT<sub>50</sub> du 4'-OH-Pyr ont été de 1,7 et 0,8 jour respectivement pour le système étang et pour le système lac (système total), avec des DT<sub>50</sub> correspondantes pour la phase eau de 0,4 et 0,7 jour. La DT<sub>50</sub> du DPH-Pyr pour le système total a été < 4 jours (étang) ; les DT<sub>50</sub> dans la phase eau ont été < 4 jours (étang) et égale à 4 jours (lac).

Les DT<sub>50</sub> du PYPAC ont été de 62,9 et 11,6 jours respectivement pour le système étang et pour le système lac (système total), avec des DT<sub>50</sub> correspondantes pour la phase eau de 33,9 et 9,1 jours.

Tableau II.4 : Dégradation du 4'OH-Pyr en système eau/sédiments (DAR)

	<b>Etang</b> (Mill)	<b>Lac</b> (Emperor)
<b>4'-OH-Pyr</b>	Maximum dans le sédiment : 48,7 % Cinétique du 1 <sup>er</sup> ordre : DT <sub>50</sub> : Eau : 0,4 jour Sédiments : 17,3 jours Système total : 1,7 jour	Maximum dans le sédiment : 10,6 % Cinétique du 1 <sup>er</sup> ordre : DT <sub>50</sub> : Eau : 0,7 jour Sédiments : non calculée Système total : 0,8 jour
<b>DPH-Pyr</b>	Maximum dans l'eau : 6,0 % Maximum dans le sédiment : 4,2 % Cinétique du 1 <sup>er</sup> ordre : DT <sub>50</sub> : Eau : < 4 jours* Sédiments : 65,6 jours Système total : < 4 jours*	Maximum dans l'eau : 5,0 % Maximum dans le sédiment : 4,6 % Cinétique du 1 <sup>er</sup> ordre : DT <sub>50</sub> : Eau : 4,0 jours Sédiments : non calculée Système total : non calculée

\* détermination graphique

Tableau II.5 : Dégradation du PYPAC en système eau/sédiments (DAR)

	<b>Etang</b> (Mill)	<b>Lac</b> (Emperor)
<b>PYPAC</b>	Maximum dans le sédiment : 31,2 % Cinétique du 1 <sup>er</sup> ordre : DT <sub>50</sub> : Eau : 33,9 jours Sédiments : 38,3 jours Système total : 62,9 jours	Maximum dans le sédiment : 13,4 % Cinétique du 1 <sup>er</sup> ordre : DT <sub>50</sub> : Eau : 9,1 jours Sédiments : 17 jours Système total : 11,6 jours

Les valeurs de dégradations qui seront utilisées pour le calcul des CPE (point 6.2.1) sont présentées dans le tableau II.6. Les valeurs de DT<sub>50</sub> maximales ont été choisies. Par ailleurs, il a été considéré que les valeurs déterminées graphiquement n'étaient pas suffisamment fiables et n'ont pas été prises en compte.

Tableau II.6 : Valeurs de dégradation utilisées pour le calcul des CPE

	pyriproxifène	4'-OH-Pyr	DPH-Pyr	PYPAC
DT <sub>50</sub> eau	<del>1,7 jour</del>	2,4 jours	4 jours	33,9 jours
Maximum dans l'eau	<del></del>	4,8 %	11,8 %	23,6 %
DT <sub>50</sub> sédiments	37,7 jours	41,5 jours	non pertinent	38,3 jours
Maximum dans les sédiments	48,5 %	14,8 %	non pertinent	7,6 %

Le schéma métabolique du pyriproxifène est le suivant (figure II.2). Pour des raisons de clarté, les voies de transformation n'ont pas toutes été représentées.

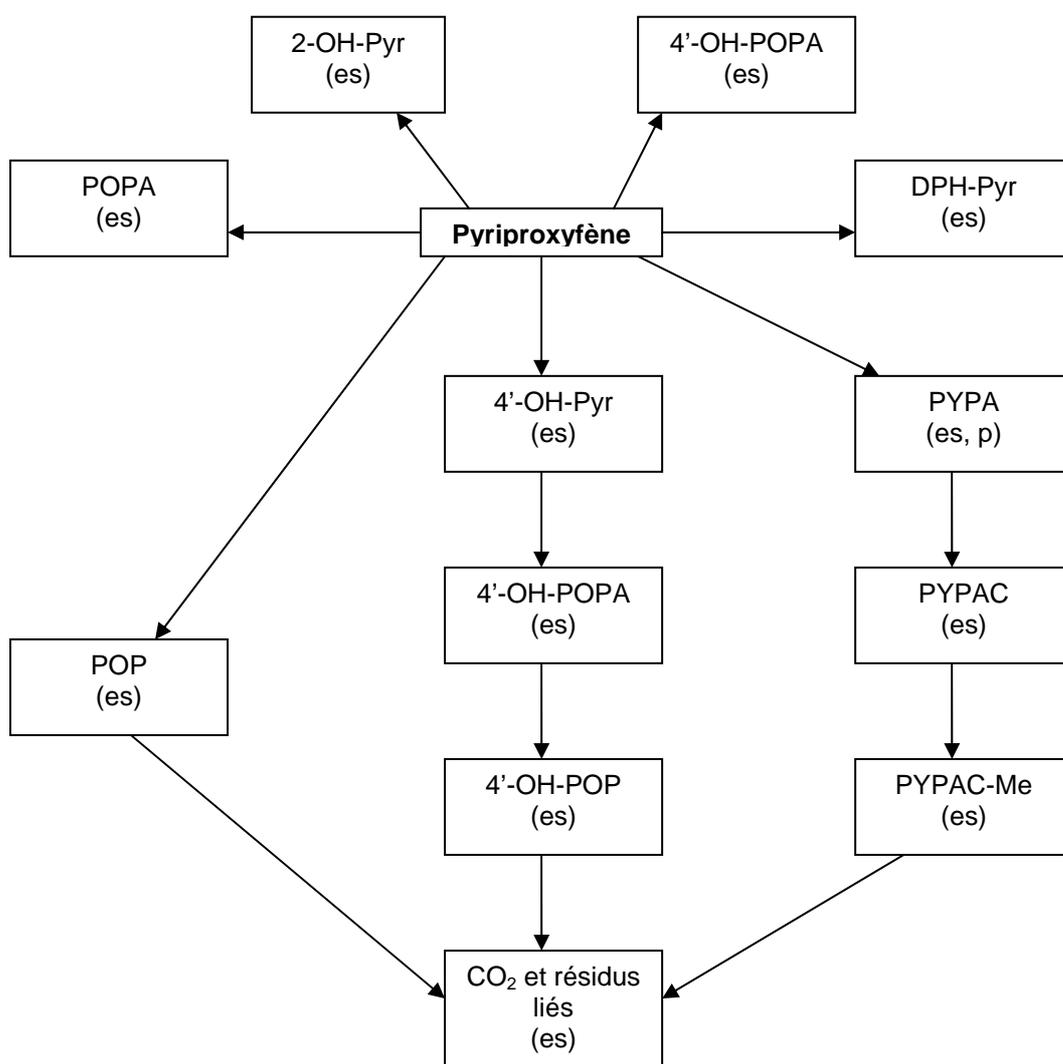


Figure II.2: Dégradation du pyriproxifène dans l'eau (p = photolyse, es = eau/sédiment)

#### 5.1.1.6 Métabolisme aquatique en conditions anaérobies

Une étude a été conduite selon le principe directeur de l'EPA 162-3 dans un système eau/sédiment (Lake Mendota, Etats-Unis), en conditions anaérobies à 25 °C et dans l'obscurité (DAR, 2005).

Le pyriproxifène a été retrouvé à un maximum de 92 % dans le sédiment (jours 32 et 61). Le métabolite PYPAC a été le seul métabolite majeur formé. Il a atteint un maximum de 16 % au jour 363 dans la phase eau et n'a pas dépassé 0,3 % dans le sédiment. Les DT<sub>50</sub> du pyriproxifène ont été calculées selon une cinétique du premier ordre ou graphiquement par le rapporteur du dossier. Les valeurs à 20 °C ont été < 1 jour dans la phase eau et 826 jours dans le système total (moyenne des DT50 pour les 2 radiomarquages).

#### 5.1.1.7 Biodégradabilité facile

Une étude a été conduite en bouteille fermée (test MITI modifié, méthode comparable à OCDE 301C) (DAR, 2005).

Selon les résultats, le pyriproxifène n'est pas classé facilement biodégradable dans les conditions du test (moins de 1 % de biodégradation après 7 et 28 jours).

#### 5.1.1.8 Biodégradabilité intrinsèque, le cas échéant

Donnée non disponible.

### 5.1.2 **Abiotique**

#### 5.1.2.1 Hydrolyse en fonction du pH et identification du ou des produits de la dégradation

L'hydrolyse ne devrait pas constituer une voie de transformation importante dans l'environnement. En effet une étude d'hydrolyse (DAR, 2005) a été conduite avec du <sup>14</sup>C pyriproxifène en conditions stériles et à l'obscurité pendant 7 jours à 50 °C. Moins de 10 % d'hydrolyse a été observé après 7 jours aux pH 4, 7 et 9.

Une demi-vie de 367 jours a pu être calculée pour un radiomarquage et à pH 4 seulement. Les demi-vies aux autres valeurs de pH n'ont pas été calculées puisque aucune hydrolyse n'a pu être clairement établie. Les produits d'hydrolyse non-identifiés ont représenté moins de 1,6 % de la radioactivité appliquée à la fin de l'étude.

#### 5.1.2.2 Phototransformation dans l'eau, y compris identité des produits de la transformation

Une étude de photodégradation a été conduite dans l'eau sous lumière solaire artificielle selon la ligne directrice EPA 161-2 (PSD, 1996). Les DT<sub>50</sub> ont été de 3,72 à 6,36 jours à 25 °C et pH 7 ; les métabolites majeurs ont été le PYPAC (maximum 70 % de la RA appliquée au jour 14) et des composés phénoliques polymérisés (maximum 60 % de la RA au jour 14, chaque fraction individuelle ne dépassant pas 10 %). Le rendement quantique Φ calculé a été de 0,086 61.

## 5.2 ESSAIS D'ADSORPTION/DESORPTION

### 5.2.1 Etudes d'adsorption/désorption

Une étude BPL (bonnes pratiques de laboratoire) (DAR, 2005) d'adsorption/désorption a été conduite avec du pyriproxyfène sur 5 sols différents et 1 sédiment, selon les lignes directrices de l'US EPA. Après mise à l'équilibre pendant 2 h, les échantillons de sol/sédiment et solution de pyriproxyfène dans 0,01 M nitrate de calcium ont été centrifugés. Les surnageants ont été prélevés, remplacés par une solution fraîche de 0,01 M nitrate de calcium et les étapes de désorption ont été conduites de manière successive. Les coefficients d'adsorption et de désorption sont présentés dans le tableau suivant. Les résultats des études d'adsorption/désorption conduites avec les métabolites 4'-OH-Pyr et PYPAC et résumées dans le DAR du pyriproxyfène sont également présentés dans ce tableau.

Tableau II.7 : Constantes d'adsorption et de désorption à l'équilibre, pour le pyriproxyfène dans 5 sols et 1 sédiment.

Type de sol ou sédiment	K <sub>oc</sub> s.a.		K <sub>oc</sub> 4'-OH-Pyr		K <sub>oc</sub> PYPAC	
	Adsorption	Désorption	Adsorption	Désorption	Adsorption	Désorption
Limon (origine Californie, Etats-Unis)	12 600	14 100	3 811	29 113	21	148
Limon , (origine Mississippi, Etats-Unis)	26 900	27 500	3 062	36 017	32	98
Limon argileux (origine Arizona, Etats-Unis)	34 200	33 400	-	-	-	-
Limon argileux (origine Kewaunee, Etats-Unis)	11 000	15 500	922	19 077	9	57

Le degré d'adsorption du pyriproxyfène augmente avec la teneur en argile, en matière organique et avec la capacité d'échange.

Ainsi le pyriproxyfène est classé comme immobile dans les conditions de cet essai.

Les valeurs moyennes des K<sub>oc</sub> calculées du pyriproxyfène sont (DAR, 2005) :

Pyriproxyfène : 21 175 (4 sols)

4'-OH-Pyr : 2 598 (3 sols)

PYPAC : 20,7 (3 sols)

## 5.2.2 Autres études

### Lessivage du pyriproxyfène en colonnes de sol :

Une étude a été conduite sur un sol limoneux (classe texturale limon, origine Ushiku, Japon) et un sol limono-sableux origine Aichi, Japon) selon la méthode des colonnes de sol (PSD, 1996 ; DAR, 2005). Après équilibrage du système, les échantillons de sol ont été traités avec du  $^{14}\text{C}$  pyriproxyfène et de l'eau distillée a été ajoutée à travers la colonne à raison de 2 mL/h pendant 8 jours.

La majorité du  $^{14}\text{C}$  appliqué est restée dans la partie supérieure de la colonne, dans la portion traitée. Le  $^{14}\text{C}$  extrait de cette portion a consisté principalement en pyriproxyfène avec seulement des traces du dérivé desphényl et du dérivé hydroxylé en position 4 du noyau phénoxy.

Dans les conditions du test, le pyriproxyfène n'a pas été lessivé de manière significative et a été immobile, même dans le sol où la matière organique était la plus faible. Dans les éluats, 0,1 % et 2,8 % de la quantité de  $^{14}\text{C}$  appliquée ont été trouvés respectivement dans les sols Ushiku (teneur en matière organique 7,6 %) et Aichi (teneur en matière organique 0,9 %).

### Lessivage du pyriproxyfène dans le sol en colonnes de résidus vieillis :

Une étude a été conduite selon la ligne directrice américaine EPA 163-1, à 25 °C et à l'obscurité, avec un limon sableux (DAR, 2005). La période d'incubation a été de 9 jours, puis les résidus après incubation ont été placés en haut d'une colonne de sol et 1 030 mL de  $\text{CaCl}_2$  0,015 N ont été ajoutés (équivalents à 508 mm). Le débit de percolation a été de 1,1 mL/min. Aucun métabolite formé n'a dépassé 10 % de la RA (maximum DPH-Pyr : 2 %, maximum 4'-OH-Pyr : 8,2 % et maximum PYPAC 4,4 %).

Dans les conditions de l'essai, la  $\text{DT}_{50}$  moyenne correspondante à 20 °C a été de 12,2 jours . La radioactivité retrouvée dans les percolats a été comprise entre 1 % et 7,6 %, la majeure partie étant constituée du métabolite PYPAC (6,5 % RA). La majorité de la radioactivité du sol a été retrouvée dans les 3 premiers centimètres de la colonne.

---

## 5.3 DEVENIR ET COMPORTEMENT DANS L'AIR

---

La pression de vapeur du pyriproxyfène indique que cette substance active est faiblement à moyennement volatile. Il existe à la fois sous forme gazeuse et sous forme particulaire dans l'atmosphère ambiante. Le pyriproxyfène sous forme gazeuse est dégradé dans l'atmosphère par réaction avec les radicaux hydroxy- produits photochimiquement, avec une demi-vie estimée à 7,4 heures. Le pyriproxyfène sous forme particulaire disparaît de l'atmosphère par déposition sèche et/ou par déposition humide (HSDB, 2006).

Il n'est pas attendu que la volatilisation depuis les surfaces mouillées et sèches du sol soit une voie importante de dissipation du pyriproxyfène, compte tenu de sa constante de Henry (calculée à  $6,3 \cdot 10^{-10}$  atm  $\text{m}^3/\text{mol}$ ) et de sa pression de vapeur. Pour les mêmes raisons, il n'est pas attendu que la volatilisation depuis les surfaces d'eau soit une voie importante de dissipation du pyriproxyfène.

Les calculs donnent une demi-vie de 3,8 heures (soit 0,16 jour) pour le pyriproxyfène, et de 0,6 jour pour le métabolite PYPAC (basées sur une réaction avec les radicaux hydroxyles à  $9,7 \cdot 10^5$  OH/ $\text{cm}^3$ ) (DAR, 2005).

La constante de Henry du métabolite PYPAC a été estimée à  $2.10^{-4}$  Pa.m<sup>3</sup>.mol<sup>-1</sup> à 25 °C, avec une pression de vapeur estimée à  $7,77.10^{-2}$  Pa à 25°C par le programme MPBPWIN v1.4 de l'US EPA.

Les pressions de vapeur du 4'-OH-Pyr et du DPH-Pyr ont également été estimées par le programme MPBPWIN v1.4, respectivement à  $1,05.10^{-7}$  Pa et  $1,77.10^{-4}$  Pa.

---

## 6 EVALUATION DU RISQUE POUR L'ENVIRONNEMENT ET CALCULS DE CPE

---

La dose de substance active recommandée dans les conditions normales d'utilisation est de 5 à 10 g/ha, mais toutefois des doses de 100 g/ha peuvent être utilisées dans le cas d'une eau particulièrement chargée. La durée d'efficacité est de 6 semaines.

L'évaluation suivante est faite avec la dose maximale proposée en LAV de 100 g/ha.

Le mode d'application considéré est une application de granulés sur plans d'eau et autres milieux aquatiques territoriaux dans l'Île de la Réunion.

---

### 6.1 VOIE ET VITESSE DE DEGRADATION DANS L'AIR – CPE (AIR)

---

Le groupe de travail européen FOCUS Air (FOCUS, 2005) a proposé des valeurs seuil pour les pressions de vapeur des substances afin d'établir si une substance est susceptible de contaminer l'air ou non. Il est ainsi considéré que pour une pression de vapeur inférieure à  $10^{-4}$  Pa à 20 °C, une substance ne sera pas volatilisée de manière significative dans l'air. Etant donnée la pression de vapeur du pyriproxifène ( $< 1,33 \cdot 10^{-5}$  Pa à 23 °C (DAR, 2005)), sa volatilité est considérée comme non significative.

Le programme AOPwin (Atmospheric Oxidation Program for Microsoft Windows) appartient à l'interface EPIWIN v3.12 de l'US EPA et est basé sur les relations structures/activités et permet d'estimer la vitesse de réaction entre les substances chimiques à l'état gazeux et les radicaux hydroxyles produits photochimiquement dans l'atmosphère. Il permet également d'estimer la vitesse de la réaction (à l'état gazeux) entre l'ozone et les composés oléfiniques/acétyléniques. Les vitesses ainsi estimées sont ensuite utilisées pour calculer les demi-vies atmosphériques des composés organiques à partir des concentrations moyennes atmosphériques des radicaux hydroxyles et de l'ozone.

Ainsi, même si une volatilisation avait lieu, la vitesse de dégradation dans l'air étant importante, la  $CPE_{air}$  est considérée comme négligeable.

---

### 6.2 VOIE ET VITESSE DE DEGRADATION DANS L'EAU

---

#### 6.2.1 Devenir dans les eaux de surface

Le pyriproxifène est stable à l'hydrolyse (§ 5.1.2.1). Aucun produit d'hydrolyse n'est détecté.

L'étude de photodégradation du pyriproxifène (§ 5.1.2.2) a montré une dégradation significative avec une  $DT_{50}$  de 3,72 à 6,36 jours. Les métabolites majeurs ont été le PYPA (maximum 70 % de la RA appliquée au jour 14) et des composés phénoliques polymérisés (maximum 60 % de la RA au jour 14, chaque fraction individuelle ne dépassant pas 10 %).

L'étude conduite en système eau/sédiment (§ 5.1.1.4) montre des  $DT_{50}$ , en conditions biotiques et dans l'obscurité, de 1,4 à 1,7 jour dans l'eau et de 5,4 à 7,8 jours dans le système total. Les métabolites majeurs sont le 4'-OH-Pyr (présent de 3 à 4,8 % dans l'eau et de 9,8 à 15 % dans le sédiment) et le DPH-Pyr (dans le système « lac », avec un taux de 12 % dans l'eau et 4,3 % dans le sédiment) et le PYPAC (présent de 6,8 à 24 % dans l'eau et de 4,3 à 7,6 % dans le sédiment).

En conditions anaérobies, la  $DT_{50}$  calculée du pyriproxifène est inférieure à 1 jour dans l'eau et de 826 jours dans le système total. Le métabolite PYPAC a été le seul métabolite majeur formé. Il a atteint un maximum de 16 % au jour 363 dans la phase eau et n'a pas dépassé 0,3 % dans le sédiment.

Selon les informations présentées ci-dessus (§4), on peut estimer que la voie principale de dégradation du pyriproxifène dans l'eau est la dégradation biotique.

Habituellement, l'évaluation des risques pour l'environnement des biocides est conduite selon les recommandations du Document Guide Technique (TGD, 2003). Toutefois, aucun scénario d'émission standard (ESD, Emission Scenario Document) n'est disponible pour les usages de larvicides en plein air et plus particulièrement pour le cas des applications directes sur les eaux de surface. Par conséquent, le modèle EUSES n'a pas été utilisé pour les applications du pyriproxifène dans le cas considéré ici, et un scénario simplifié d'émission de la substance dans l'environnement a été utilisé.

Grâce à ce scénario d'émission et à partir des temps de demi-vies rappelés ci-dessus, une  $CPE_{\text{eau de surface}}$  a pu être calculée, sur la base des recommandations publiées de la Structure Scientifique Mixte (SSM, 2004) qui estiment des conditions plutôt conservatrices ou défavorables pour calculer des concentrations de pesticides agricoles dans les différents compartiments de l'environnement.

Les calculs ont été conduits en considérant la dose maximale appliquée, soit 100 g/ha de pyriproxifène, ainsi que le nombre maximal d'applications, soit 2 applications espacées de 42 jours. En application directe sur plan d'eau, 100 % de la substance active est supposée atteindre les eaux de surface (aucune dérive, volatilité etc.. n'est prise en compte).

Un plan d'eau stagnante d'une superficie correspondant à la superficie traitée et de 30 cm de profondeur a été considéré pour les calculs de  $CPE_{\text{eau de surface}}$ . Ce scénario est pris par défaut, il est représentatif des cours d'eau et eaux stagnantes, et représente un cas défavorable pour les zones traitées (DIREN Réunion, 2006a).

Selon ces recommandations, la  $CPE_{\text{eau de surface}}$  après application directe est égale à :

Pour une application :

$$CPE_{1 \text{ application}} (\mu\text{g/L}) = \text{dose appliquée (g s.a./ha)} \times 1/3$$

Pour n applications :

$$CPE_{\text{après la dernière application}} (\mu\text{g/L}) = CPE_{1 \text{ application}} + CPE_{\text{résiduelle des précédentes applications}}$$

A partir de la  $CPE_{1 \text{ application}}$ , une concentration moyenne pondérée par le temps ( $CPE_{\text{eau de surface, mpt}}$ ) est également calculée sur une période couvrant la durée totale de toutes les applications ; plus 42 jours après la dernière application. De cette manière, la  $CPE_{\text{eau de surface, mpt}}$  tient compte :

- de la dégradation de la substance,
- du nombre d'applications,
- de l'intervalle entre les applications.

Les  $CPE_{\text{eau de surface, mpt}}$  sont calculées selon l'équation suivante :

$$CPE_{\text{eau de surface, twa}} = CPE_{\text{eau de surface}} \frac{DT_{50}}{d \cdot \ln(2)} (1 - e^{(-d \cdot \ln(2)/DT_{50})})$$

Ainsi, lorsque la substance active se dissipe de la phase aqueuse, l'aire sous la courbe est calculée et divisée par le nombre de jours, permettant de prendre en compte une exposition constante pendant toute la période considérée.

Pour les métabolites, les données disponibles ne permettent pas de déterminer leur vitesse de formation. On considère donc qu'ils sont formés instantanément, au moment de l'application, et à leur pourcentage maximal observé lors des études eaux-sédiment. Les concentrations sont donc calculées comme pour la substance active, considérant une application équivalente au maximum retrouvé dans l'eau pour les études eau-sédiment.

En cas de manque de données concernant la dissipation d'une substance, une approche maximaliste est utilisée, la substance est alors considérée comme stable (pas de dissipation prise en compte).

Les données concernant la substance active sont appliquées à la formulation.

Tableau II.8 : Paramètres du SUMILARV® 0,5 G utilisés pour le calcul des  $CPE_{\text{eau de surface}}$

DT <sub>50</sub> eau :	1,7	jour
Dose appliquée :	20	kg SUMILARV® 0,5 G
Nombre d'applications :	2	applications
Intervalle entre les applications :	42	jours

Tableau II.9 : Résultats de  $CPE_{\text{eau de surface}}$  obtenus - SUMILARV® 0,5 G

$CPE_{\text{eau de surface}}$ , 1 application :	6,67	mg/L
---	------	------

Tableau II.10 : Paramètres du pyriproxifène utilisés pour le calcul des  $CPE_{\text{eau de surface}}$

DT <sub>50</sub> eau :	1,7	jour
Masse molaire :	321,37	g/mol
Dose appliquée :	100	g s.a/ha
Coefficient de dérive :	0	%
Nombre d'applications :	2	applications
Intervalle entre les applications :	42	jours

Tableau II.11 : Résultats de  $CPE_{\text{eau de surface}}$  obtenus - pyriproxifène

$CPE_{\text{eau de surface}}$ , 1 application :	33,33	µg/L
$CPE_{\text{eau de surface}}$ , dernière application :	33,33	µg/L

Jours après la dernière application	Concentration instantanée (µg/L)	Concentration pondérée (µg/L)
0	33,33	33,33
3	9,81	19,23
14	0,11	5,82

21	0,01	3,89
28	< 0,01	2,92
61	< 0,01	1,34

Tableau II.12 : Paramètres du 4'-OH-Pyr utilisés pour le calcul des  $CPE_{\text{eau de surface}}$ 

DT <sub>50</sub> eau :	2,4	jours
Masse molaire :	337,4	g/mol
%max dans l'eau :	4,8	%

Tableau II.13 : Résultats de  $CPE_{\text{eau de surface}}$  obtenus - 4'-OH-Pyr

$CPE_{\text{eau de surface}}$ , 1 application :	1,68	µg/L
$CPE_{\text{eau de surface}}$ , dernière application :	1,68	µg/L

Jours après la dernière application	Concentration instantanée (µg/L)	Concentration pondérée (µg/L)
0	1,68	1,68
3	0,71	1,12
14	0,03	0,41
21	< 0,01	0,28
28	< 0,01	0,21
61	< 0,01	0,07

Tableau II.14 : Paramètres du PYPAC utilisés pour le calcul des  $CPE_{\text{eau de surface}}$ 

DT <sub>50</sub> eau :	33,9	jours
Masse molaire :	167,17	g/mol
%max dans l'eau :	23,6	%

Tableau II.15 : Résultats de  $CPE_{\text{eau de surface}}$  obtenus - PYPAC

$CPE_{\text{eau de surface}}$ , 1 application :	4,09	µg/L
$CPE_{\text{eau de surface}}$ , dernière application :	5,83	µg/L

Jours après la dernière application	Concentration instantanée (µg/L)	Concentration pondérée (µg/L)
0	5,83	5,83
3	5,48	6,65
14	4,38	5,07
21	3,79	4,74
28	3,29	4,44
61	1,64	3,26

Tableau II.16 : Paramètres du DPH-Pyr utilisés pour le calcul des CPE<sub>eau de surface</sub>

DT <sub>50</sub> eau :	4	jours
Masse molaire :	245,28	g/mol
%max dans l'eau :	11,8	%

Tableau II.17 : Résultats de CPE<sub>eau de surface</sub> obtenus - DPH-Pyr

CPE <sub>eau de surface</sub> , 1 application :	3,00	µg/L
CPE <sub>eau de surface</sub> , dernière application :	3,00	µg/L

Jours après la dernière application	Concentration instantanée (µg/L)	Concentration pondérée (µg/L)
0	3,00	3,00
3	1,79	2,34
14	0,27	1,13
21	0,08	0,80
28	0,02	0,61
61	< 0,01	0,28

Tous ces résultats sont compatibles avec la solubilité du pyriproxifène dans l'eau.

Il est à noter que les CPE<sub>eau de surface</sub> sont calculées en supposant qu'il y a dissolution instantanée des granulés dans toute la phase aqueuse, or compte tenu du log P, de la solubilité dans l'eau et du Koc, la CPE<sub>eau de surface</sub> peut être considérée comme maximaliste pour les organismes aquatiques. On peut penser que la substance aura plus tendance à précipiter et à s'associer aux particules ou aux sédiments dans les conditions réelles d'utilisation et pour lesquelles une évaluation spécifique est nécessaire.

---

## 6.2.2 Devenir dans les eaux souterraines

Si les granulés sont appliqués en milieu aquatique et hors des zones de captage d'eaux souterraines, on peut considérer que les contaminations des nappes phréatiques dans les conditions proposées sont négligeables. On estime en effet que les contaminations des nappes phréatiques peuvent se faire par dérive lors de l'application. Récemment cette question a été soulevée dans le cas de la dérive des poussières de granulés en utilisation agricole (en utilisant des granulés). Les conclusions du groupe PPR de l'EFSA (2004), selon la teneur en poussières dans les granulés, sont qu'il peut y avoir une contamination par dérive. Considérant que la formulation est considérée comme « essentiellement non poussiéreuse (MT 171) » (WHO, 2006) et que l'application des granulés à la Réunion à la main ou à l'aide de petits appareils manuels est non dispersive, la proportion de produit disponible pour la dérive est évaluée à 0,1 % maximum (proportion maximale de poussières contenues dans la formulation d'après résultat d'essai selon la méthode CIPAC MT 171). Considérant que les poussières ont une concentration en substance active homogène par rapport aux granulés, la dérive effective sera donc inférieure à 0,1 % de substance active appliquée ce qui est négligeable dans notre cas. La contamination du sol adjacent par dérive et des eaux souterraines est donc considérée comme négligeable.

Par mesure de précaution et ce pour tous les produits, une utilisation hors des zones de captage est recommandée.

---

## 6.3 VOIE ET VITESSE DE DISSIPATION DANS LES SEDIMENTS

---

### 6.3.1 Méthode de calcul

La présence et la dissipation des substances dans les sédiments sont dues :

- aux transferts depuis l'eau vers le sédiment, notamment par adsorption,
- aux transferts depuis les sédiments vers l'eau, notamment par désorption,
- à la dégradation de la substance dans les sédiments.

Les données spécifiques à la formation des métabolites et au transfert de l'eau vers le sédiment n'étant pas disponibles, on considère que :

- les granulés se délitent instantanément au moment de l'application dans l'eau,
- les métabolites sont formés instantanément au pourcentage maximal relevé lors des études eau-sédiments,
- le transfert des substances (substance active et métabolites) de l'eau vers le sédiment est instantané au moment de l'application dans l'eau.

Compte tenu du log P et de la solubilité dans l'eau et du Koc, la  $CPE_{\text{eau de surface}}$  peut être considérée comme maximaliste, la substance aura plus tendance à précipiter et à s'accumuler dans les sédiments.

Les transferts des sédiments vers l'eau et la dégradation des substances sont définis communément par la dissipation, et les vitesses sont déterminées dans les études eau-sédiments. Les vitesses de dissipation dans le sédiment n'étant pas déterminées, la vitesse de dissipation dans le système complet, moins rapide que la dissipation dans l'eau, est utilisée, quand disponible, pour l'évaluation des concentrations dans les sédiments.

Les Concentrations Environnementales Prévisibles dans les sédiments ( $CPE_{\text{sed}}$ ) ont été calculées en considérant le même plan d'eau stagnante que pour les eaux de surface (100 x

100 x 0,3 m<sup>3</sup>) avec une couche de sédiments de 5 cm de profondeur et de poids sec de 0,8 g/cm<sup>3</sup> (SSM, 2004).

$$CPE_{sed}(t), (mg/kg) = \frac{CPE_{ini,eau\ de\ surface} * V_{sw} * P_{sed}(t)}{V_{sed} * bd_{sed} * 100}$$

Avec :

$CPE_{ini,eau\ de\ surface}$  : CPE initiale dans les eaux de surface  
 $V_{sw}$  : volume d'eau (300 L)  
 $P_{sed}(t)$  : % de substance active dans le sédiment au temps t  
 $V_{sed}$  : volume de sédiment (5 000 cm<sup>3</sup> pour une profondeur de 5 cm)  
 $bd_{sed}$  : densité sèche de sédiment (0,8 g/cm<sup>3</sup>)

La dégradation entre les applications est prise en compte quand la substance n'est pas considérée comme stable.

Pour les métabolites, les concentrations sont calculées de la même manière que pour le parent, considérant le maximum de métabolite retrouvé dans le sédiment (% du parent appliqué) lors des études eau-sédiments et en tenant compte des masses molaires.

$$CPE_{sed-met}(t), (mg/kg) = \frac{CPE_{ini,eau\ de\ surface} * V_{sw} * P_{sed}(t) * M(met)}{V_{sed} * bd_{sed} * 100 * M(parent)}$$

### 6.3.2 Paramètres considérés

Les paramètres du pyriproxifène considérés pour le calcul des  $CPE_{sed}$  sont les suivants :

Tableau II.18 : Paramètres du pyriproxifène utilisés pour le calcul des  $CPE_{sed}$

Substance active	pyriproxifène	
Nombre d'applications :	2	applications
Intervalle entre les applications :	42	jours
Masse molaire (g/mol)	321,38	g/mol
% max dans les sédiments	48,5	% RA
DT <sub>50</sub> dans les sédiments *	37,7	jours
<b>Métabolite</b>	<b>4'-OH-Pyr</b>	
Masse molaire (g/mol)	337,38	g/mol
% max dans les sédiments	14,8	% RA
DT <sub>50</sub> dans les sédiments *	41,5	jours
<b>Métabolite</b>	<b>PYPAC</b>	
Masse molaire (g/mol)	245,28	g/mol
% max dans les sédiments	7,6	% RA
DT <sub>50</sub> dans les sédiments*	38,3	jours

### 6.3.3 Résultats

Les CPE<sub>sed</sub> du pyriproxifène ont été estimées en considérant les vitesses de dégradation proposées ci-dessus. Elles sont présentées dans le tableau suivant.

Tableau II.19 : Calculs des CPE<sub>sed</sub> pour le pyriproxifène

CPE <sub>sed</sub> , dernière application :	177,27	µg/kg sédiment sec
Jours après la dernière application	Concentration instantanée (µg/kg de sédiment sec)	Concentration pondérée par le temps (µg/kg de sédiment sec)
0	177,27	177,27
3	167,75	172,47
14	137,04	156,29
21	120,49	147,06
28	105,94	138,56
61	57,75	106,57

Tableau II.20 : Calculs des CPE<sub>sed</sub> pour le 4'-OH-Pyr

CPE <sub>sed</sub> , dernière application :	2,79	µg/kg sédiment sec
Jours après la dernière application	Concentration instantanée (µg/kg de sédiment sec)	Concentration pondérée par le temps (µg/kg de sédiment sec)
0	2,79	2,79
3	2,65	2,72
14	2,21	2,49
21	1,96	2,35
28	1,75	2,23
61	1,01	1,75

Tableau II.21 : Calculs des CPE<sub>sed</sub> pour le PYPAC

CPE <sub>sed</sub> , dernière application :	3,42	µg/kg sédiment sec
Jours après la dernière application	Concentration instantanée (µg/kg de sédiment sec)	Concentration pondérée par le temps (µg/kg de sédiment sec)
0	3,42	3,42
3	3,24	3,33
14	2,66	3,02
21	2,34	2,85
28	2,06	2,69
61	1,13	2,07

---

## 6.4 VOIE ET VITESSE DE DEGRADATION DANS LE SOL

---

Comme présenté au point 6.2.2, la contamination du sol est considérée comme négligeable.

---

## 6.5 DEVENIR EN MILIEU MARIN ET ESTUARIEN

---

Aucune donnée n'est disponible concernant la contamination des milieux marins par le pyriproxifène. Cependant, à la demande de la Préfecture de la Réunion, la Direction Régionale de l'Environnement (DIREN) de la Réunion a lancé dès le mois de février 2006 une opération d'évaluation de la contamination potentielle du milieu marin et estuarien par les biocides utilisés dans le cadre de la lutte contre le Chikungunya. Cette étude avait pour objet la réalisation de campagnes d'échantillonnage d'eau de mer, de sédiments et d'organismes aquatiques marins et estuariens en vue de réaliser des analyses des niveaux de contamination par les biocides (DIREN Réunion, 2006b).

Deux campagnes d'échantillonnages ont été réalisées au cours du premier semestre 2006. La première campagne a été réalisée après une première tempête ayant généré une pluviométrie très abondante sur la Réunion. Le premier lessivage de la saison a ainsi pu être pris en compte.

La seconde campagne a été réalisée dans une période globalement peu pluvieuse. En raison de la saturation relativement importante des sols suite à un hiver pluvieux, les transferts vers le milieu marin ont néanmoins pu être rapides.

De l'eau, du sédiment et des matrices biologiques (oursins, bivalves, poissons marins et poissons d'eau douce) ont été prélevés dans différents sites.

Les résultats des analyses réalisées sur quatre échantillons d'eau brute n'ont permis de détecter aucune des molécules recherchées (téméphos, fénitrothion, deltaméthrine).

Il convient toutefois de noter qu'il s'agit là d'un échantillonnage extrêmement léger, réalisé afin d'évaluer l'intérêt de la mise en œuvre d'une seconde campagne plus importante. Considérant l'absence de traces des molécules recherchées, en dépit d'un lessivage potentiellement important en raison des pluies très abondantes qui ont précédé les prélèvements, il a été décidé de ne pas relancer d'échantillonnage d'eau de mer et de concentrer les efforts sur les matrices animales et sédimentaires.

On constate également que les trois molécules ayant fait l'objet d'une utilisation dans la LAV n'ont pas été détectées dans les sédiments marins analysés.

Pour les matrices animales, le premier constat est l'absence d'observation du téméphos et du fénitrothion sur l'ensemble des sites. Ces molécules ne semblent donc pas avoir été accumulées dans les animaux marins. La deltaméthrine a été observée à l'état de trace dans des oursins de la Baie de Saint-Paul lors de la seconde campagne d'échantillonnage. Il s'agit du seul résultat positif observé pour cette molécule sur les 23 échantillons prélevés en milieux marin et estuarien. La quasi-absence de cette molécule dans les organismes aquatiques est conforme à la bibliographie qui indique une rapide métabolisation lors de son ingestion par des organismes vivants.

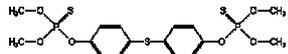
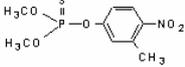
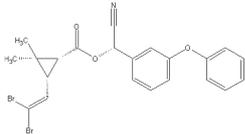
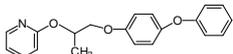
Cette première phase d'évaluation des effets directs potentiels de la LAV contre le Chikungunya en matière de contamination des milieux et des organismes aquatiques met en évidence une quasi-absence de traces de contamination par les molécules utilisées. Il est tout de même important de noter que ces résultats doivent être considérés avec une grande

prudence compte tenu de l'échantillonnage limité qui a pu être mis en place en fonction des moyens disponibles et de la durée limitée de cette étude.

Les propriétés de dissipation et Koc du pyriproxifène, sensiblement équivalentes à celles du téméphos (voir tableau II.22), permettent d'appuyer la comparaison du comportement de ces deux substances.

Ces résultats lorsqu'ils seront complétés pourront être ainsi être extrapolés à des molécules comme le pyriproxifène et justifient l'approche maximaliste d'étude par compartiment environnemental.

Tableau II.22 : Comparaison des principales propriétés physico-chimiques du téméphos, du fénitrothion, de la deltaméthrine et du pyriproxifène

	téméphos	fénitrothion	deltaméthrine	pyriproxifène
poids moléculaire (g/mol)	466,4	277,24	505,2	321,37
formule structurale développée				
solubilité dans l'eau (mg/L)	0,03	19	0,000 2	0,367
DT <sub>50</sub> dans l'eau (jours)	17,2*	61	0,71	1,7
DT <sub>50</sub> dans les sédiments (jours)	17,2*	-	40*	37,7
DT <sub>50</sub> dans le sol (jours)	30	3	50	25
Koc	8 241 à 37 356	103 à 283	460 000 à 16 300 000	11 000 à 34 200
pression de vapeur (Pa)	9,5.10 <sup>-6</sup>	1,57.10 <sup>-3</sup>	1,24.10 <sup>-8</sup>	< 1,33.10 <sup>-5</sup>
constante de Henry (Pa.m <sup>3</sup> .mol <sup>-1</sup> )	0,148	9,86.10 <sup>-3</sup>	3,1.10 <sup>-2</sup>	< 1,16.10 <sup>-5</sup>

\* système total eau/sédiments

## 7 CONCLUSION

Le pyriproxifène est une substance peu soluble dans l'eau, stable en phase aqueuse, non volatil qui montre un potentiel de bioaccumulation élevé, est très fortement adsorbé sur les particules du sol ou des sédiments. Ainsi une attention particulière doit être portée sur la phase sédimentaire.

En conditions abiotiques, la dégradation dans l'environnement sera d'origine photochimique (demi-vie comprise entre 17,5 et 21 jours). En conditions biotiques, le pyriproxifène est dégradé rapidement dans le sol, avec des  $DT_{50}$  de 2,8 à 25 jours (données laboratoire).

La dégradation du pyriproxifène en systèmes eau/sédiments en conditions aérobies est rapide dans la phase eau ( $DT_{50}$  entre 1,4 et 1,7 jour) et dans les sédiments ( $DT_{50}$  entre 30,6 et 37,7 jours). Le maximum retrouvé dans les sédiments est de 48,5 %. Les métabolites majeurs sont le 4'-OH-pyriproxifène (présent de 3,0 à 4,8 % dans l'eau et de 9,8 à 14,8 % dans le sédiment) et le DPH-pyriproxifène (présent de 4,2 à 11,8 % dans l'eau et 3,2 à 4,3 % dans le sédiment) et le PYPAC (présent de 6,8 à 23,6 % dans l'eau et de 4,3 à 7,6 % dans le sédiment).

En conditions anaérobies, la  $DT_{50}$  calculée du pyriproxifène est inférieure à 1 jour dans l'eau et de 826 jours dans le système total. Le métabolite PYPAC a été le seul métabolite majeur formé.

Le mode d'application considéré est une application de granulés de pyriproxifène sur plans d'eau et autres milieux aquatiques territoriaux. La contamination du sol et des eaux souterraines est considérée comme négligeable.

Les concentrations prévisibles dans l'environnement, instantanées et moyennées ont été calculées, considérant 2 applications sur l'eau de 100 g s.a./ha avec 42 jours d'intervalle entre les applications.

Les résultats sont présentés ci-dessous :

Tableau II.23 : Bilan des CPE du pyriproxifène et de ses métabolites

	$CPE_{max}$	$CPE_{mpt}$ (21 jours)	Unités
<b>pyriproxifène</b>			
Eaux de surface	33,33	3,89	µg/L
Sédiments	177,27	147,06	µg/kg sédiment sec
<b>4'OH-Pyr</b>			
Eaux de surface	1,68	0,28	µg/L
Sédiments	2,79	2,23	µg/kg sédiment sec
<b>PYPAC</b>			
Eaux de surface	5,83	4,74	µg/L
Sédiments	3,42	2,85	µg/kg sédiment sec
<b>DPH-Pyr</b>			
Eaux de surface	3,00	0,80	µg/L

---

## LISTE DES REFERENCES

### Partie I : Liste des revues issues des organismes officiels et utilisées pour la constitution de ce document

- AFSSA (2000) Base de données Agritox : <http://www.dive.afssa.fr/agritox/>
- ARLA (2006). *Projet de décision réglementaire – pyriproxifène*. Document publié par l'Agence de réglementation de la lutte antiparasitaire (ARLA) de Santé Canada. 12 septembre 2006. <http://www.pmra-arla.gc.ca/francais/pdf/prdd/prdd2006-04-f.pdf>
- DAR (2005) Draft Assessment Report pyriproxifène, Novembre 2005, Volume 3, point B9
- HSDB (Hazardous substance data bank) (2006). Base de données de la National Library of Medicine's TOXNET system
- IPCS INCHEM (1999) Pesticide residues in food. Toxicological evaluations. Pyriproxifène (first draft prepared by K. Fujimori, National institute of health Sciences, Tokyo, Japan)
- Pesticide Manual (2006) Pyriproxifène-Insecticide. Ref. 708. C D S Tomlin (editor)
- PSD (1996), Evaluation on pyriproxifène use as a public hygiene insecticide, Issue no.147, Janvier 1996
- WHO (2005), WHO specifications et evaluations for public health pesticides – PYRIPROXYFEN, WHO Report 715/2005
- WHO (2006), Pyriproxifène granules, WHO specification 715/GR (July 2006); WHO specifications and evaluations for public health pesticides

### Partie II : liste des autres références citées dans ce document

- DIREN Réunion (2006a) Présentation des résultats du réseau d'alerte, volet : « Surveillance des eaux douces », version finale, juin 2006
- DIREN Réunion (2006b) Suivi environnemental de l'impact potentiel de la lutte antivectorielle mise en œuvre contre le Chikungunya. Evaluation de la qualité de l'eau, des sédiments et de la contamination d'organismes aquatiques en milieux marin et estuarien. Lionel Gardes, 28 juin 2006
- EFSA (2004) The EFSA Journal 145, 1-31
- FOCUS (2005). « Pesticides in Air : Considerations for Exposure Assessment ». Rapport du groupe de travail FOCUS sur les Pesticides dans l'air, Document EC SANCO (draft, 218 pp)
- Goring, C.A.I., D.A. Laskowski, J.W. Hamaker et R.W. Meikle. (1975) Principles of pesticide degradation in soil. In : Haque, R. et V.H. Freed (éds), *Environmental dynamics of pesticides*. Plenum Press, New York, p. 135-172
- SSM (2004) Evaluation du risque environnemental des produits phytopharmaceutiques. Révision 6-5, octobre 2004. Commission d'étude de la toxicité des produits antiparasitaires à usage agricole et des produits assimilés des matières fertilisantes et des supports de culture
- Sullivan J. (2000) Environmental fate of pyriproxifène. Environmental Monitoring & Pest Management Branch Department of Pesticide Regulation 830 K Street Sacramento, CA 95814-3510. May 2000.
- TGD (2003) Technical Guidance Document on risk assessment, Institute for Health and Consumer Protection, European Chemical Bureau, EUR 20418 EN/2, 2003



CEHTRA  
43 rue Laroque  
33560 Sainte Eulalie  
France

Tel (33) 5 57 77 56 10  
Fax (33) 5 57 77 56 20  
[www.cehtra.fr](http://www.cehtra.fr)

# **PYRIPROXYFÈNE**

## **III-Evaluation du risque écotoxicologique**

**DATE**

**Juillet 2007**

---

## TABLE DES MATIERES

<b>1. INTRODUCTION.....</b>	<b>353</b>
1.1. Informations sur la préparation .....	353
1.2. Données sur l'application.....	353
<b>2. Effets sur les organismes aquatiques.....</b>	<b>354</b>
2.1. Toxicité du pyriproxifène sur les organismes .....	354
2.1.1. Données de laboratoire	355
2.1.2. Etude de bioconcentration	357
2.2. Evaluation du risque pour les organismes aquatiques .....	360
2.3. Impact sur le milieu marin et estuarien .....	365
<b>3. Impact sur les Organismes terrestres non cibles .....</b>	<b>368</b>
3.1. Effets sur les oiseaux et les mammifères .....	368
3.1.1. Toxicité sur les oiseaux	368
3.1.2. Toxicité sur les mammifères	369
3.1.3. Risque pour les organismes consommant l'eau traitée	370
3.1.4. Risque pour les animaux se nourrissant de poissons	371
3.1.5. Risques pour les consommateurs se nourrissant de poissons	372
3.2. Effets sur les abeilles.....	372
3.3. effets sur les vers de terre.....	373
<b>4. Conclusion générale .....</b>	<b>374</b>

---

## 1 INTRODUCTION

---

Les données présentées pour évaluer la toxicité du pyriproxifène sur les organismes aquatiques et terrestres sont issues des évaluations faites par différents organismes réglementaires nationaux (AFSSA) et étrangers (OMS, PSD ...). Les documents de revue préalablement rédigés par ces organismes officiels sont référencés en partie I de la liste des références. Les rapports d'étude cités dans ces revues n'ont pas été accessibles et n'ont donc pas été revus par le rédacteur de ce document.

De plus, le pyriproxifène a fait l'objet d'une revue européenne dans le cadre de l'évaluation des produits phytosanitaires selon la directive européenne 91/414/CEE. L'évaluation de cette substance active est donc disponible sous forme de DAR (Draft Assessment Report, 2005) sur le site de l'EFSA (Agence Européenne de la Sécurité Alimentaire).

Pour chaque niveau trophique et compartiment environnemental pertinent, ces données de toxicité sont ensuite comparées avec les valeurs de concentration prédites dans l'environnement telles qu'elles ont été dérivées dans la section 2 (Propriétés physico-chimiques - Evaluation du risque pour l'environnement) afin de caractériser le risque écotoxicologique.

En l'absence de données d'écotoxicité pertinentes sur la préparation et ses coformulants, l'évaluation du risque est essentiellement basée sur les données de toxicité de la substance active, tout en étant adaptée aux conditions d'application de la préparation susceptible d'être utilisée sur l'Île de la Réunion dans le cadre de la lutte antivectorielle (LAV).

---

### 1.1 INFORMATIONS SUR LA PREPARATION

---

Nom : SUMILARV® 0.5G  
Type de préparation : Granulé (code GIFAP : GR)  
Substance active et concentration : pyriproxifène : 0,5 % m/m  
Fonction : Insecticide (larvicide)

---

### 1.2 DONNEES SUR L'APPLICATION

---

Dose d'application maximale : 100 g s.a./ha pour une eau très infestée par les larves de moustique  
Dose d'application usuelle : 5 à 10 g s.a./ha  
Nombre d'applications : Deux par an avec un intervalle minimal de 6 semaines entre les 2 applications

---

## 2 EFFETS SUR LES ORGANISMES AQUATIQUES

---

---

### 2.1 TOXICITE DU PYRIPROXYFENE SUR LES ORGANISMES

---

La toxicité du pyriproxyfène a été évaluée en laboratoire sur diverses espèces aquatiques.

La toxicité aiguë du pyriproxyfène pour les daphnies est élevée avec une  $CE_{50}$  (Concentration entraînant des effets sur 50 % des individus) de 0,4 mg/L. La toxicité chronique est très élevée avec une CSEO (Concentration sans effet observé) de  $15 \cdot 10^{-6}$  mg/L. Comme le composé est un insecticide et est utilisé contre les stades larvaires aquatiques des moustiques, des simulis et des moucheron, la nature toxique envers les invertébrés aquatiques n'est pas surprenante.

La toxicité aiguë est du même ordre de grandeur pour les poissons avec une  $CL_{50}$  (Concentration létale pour 50 % des individus) de 0,85 mg/L pour la truite arc-en-ciel. La toxicité chronique pour les poissons est moins importante que pour les daphnies avec une CSEO de l'ordre de 1 µg/L.

La toxicité du pyriproxyfène sur les algues vertes est de 0,094 mg/L (effet sur biomasse) et 0,15 mg/L (effet sur la croissance).

Les données de toxicité sur plante aquatique montrent une  $CE_{50}$  supérieure à 0,18 mg/L, dose la plus haute testée.

Les effets chroniques sur les organismes vivant dans les sédiments sont du même ordre de grandeur (une dizaine de µg/L) que sur les poissons.

Les données de log Pow (5,37 à 25 °C) du pyriproxyfène suggèrent un risque potentiel de bioaccumulation. Cependant, les données expérimentales sur la bioconcentration ne confirment pas ce potentiel. Une étude de bioconcentration sur la carpe a donné un FBC (facteur de bioconcentration) de 350 à 400 avec un temps de dépuración de 0,4 à 0,6 jour. Les métabolites  $^{14}C$  du pyriproxyfène sont principalement accumulés dans la vésicule biliaire et les viscères, suggérant que le pyriproxyfène suit un cycle entéro-hépatique. Les FBC des métabolites sur les poissons sont plus élevés (FBC 1 300 à 1 500) mais il est peu probable que la bioconcentration soit un problème en raison de la dépuración très rapide ( $t \approx 1$  jour).

### 2.1.1 Données de laboratoire

Tableau III.1 : Données de toxicité aiguë et chronique du pyriproxifène technique pour les organismes aquatiques

Espèce	Conditions du test	CL/CE <sub>50</sub> (mg s.a./L)	Référence
<b>Poissons</b>			
Truite arc-en-ciel <i>Onchorhynchus mykiss</i>	96 h, dynamique, TAI* (95,3 %), EPA 72.1	CL <sub>50</sub> > 0,325 <sup>a</sup>	DAR (2005), WHO (2005)
Truite arc-en-ciel <i>Onchorhynchus mykiss</i>	96 h, dynamique, TAI* (97,2 %), OECD	CL <sub>50</sub> = 0,85 <sup>d</sup>	PSD (1996)
Crapet arlequin, <i>Lepomis macrochirus</i>	96 h, dynamique, TAI* (95,3 %), EPA 72.1	CL <sub>50</sub> > 0,270 <sup>a</sup>	DAR (2005), WHO (2005)
Truite arc-en-ciel <i>Onchorhynchus mykiss</i>	ELS, dynamique, 61 j après éclosion, TAI* (97,2 %), EPA 72.4	CSEO = 4,3.10 <sup>-3c</sup> MATC* = 5,4.10 <sup>-3c</sup>	DAR (2005), PSD (1996)
<b>Invertébrés</b>			
<i>Daphnia magna</i>	48 h, dynamique, TAI* (95,3 %), EPA 72.2	CE <sub>50</sub> = 0,4 <sup>c</sup>	DAR (2005), WHO (2005)
<i>Daphnia magna</i>	21 j, dynamique, TAI* (97,2 %), EPA 72-4	CSEO = 15.10 <sup>-6c</sup> MATC <sup>a</sup> = 20.10 <sup>-6c</sup>	DAR (2005), AFSSA (2000), PSD (1996)
Crustacé marin <i>Mysidopsis bahia</i>	28 j, dynamique, TAI* (95,3 %), EPA 72.4	CSEO = 0,81.10 <sup>-3e</sup>	PSD (1996)
<b>Algues</b>			
<i>Selenastrum capricornutum</i>	TAI* (97,2 %), 72 h, effet sur croissance, OECD 201	CE <sub>50</sub> = 0,064 <sup>e</sup> CSEO = 0,02 <sup>e</sup>	WHO (2005)
<i>Selenastrum capricornutum</i>	TAI* (97,2 %), 72 h, OECD 201	CEb <sub>50</sub> = 0,094 <sup>d</sup> CSEOb = 0,025 <sup>d</sup> CEr <sub>50</sub> = 0,15 <sup>d</sup> CSEOr = 0,05 <sup>d</sup>	DAR (2005)
<b>Plantes aquatiques</b>			
<i>Lemna gibba</i>	TAI* (98,4 %), 14 j, semi- statique, EPA 122-2 & 123-2	CEb <sub>50</sub> > 0,18 <sup>a</sup> CEr <sub>50</sub> > 0,18 <sup>a</sup>	DAR (2005)
<b>Organismes vivant dans les sédiments</b>			
<i>Chironomus riparius</i>	TAI* (97,9 %) et pyridyl-2,6- 14C-pyriproxifène (98,9 %), 28 j, statique, draft OECD 219	28j CE <sub>50</sub> > 40.10 <sup>-3</sup> CSEO = 10.10 <sup>-3</sup>	DAR (2005)
<b>Microcosme</b>			
Algue, cladocère, copépode, ostracode, rotifère	Pyriproxifène 10EC (102 g/L)	NOEAEC <sup>b</sup> = 5.10 <sup>-3</sup>	DAR (2005)

\* technical active ingredient = substance active technique

a maximum acceptable toxicant concentration = limite maximale admissible de toxique

b no-observed ecosystem adverse-effect concentration = concentration sans effet écologique néfaste observé

c Données basées sur les concentrations moyennes mesurées

d Données basées sur les concentrations nominales

- e Données indiquées telles qu'elles sont rapportées dans les revues rédigés par ces organismes officiels sans qu'il ne soit indiqué s'il s'agit de valeurs nominales ou mesurées

Le DPH-PYR (oxyde de 4-hydroxyphényle (*RS*)-2-(2-pyridyloxy)propyle) et le PYPAC (acide (*RS*)-2(2-pyridyloxy)propionique) sont les métabolites majeurs (> 10 %) observés dans la phase eau d'une étude eau/sédiments décrite dans la section 2 (Propriétés physico-chimiques - Evaluation du risque pour l'environnement), avec des niveaux respectifs de 11,8 et 23,6 % de radioactivité appliquée (RA) dans l'eau et 4,3 et 7,6 % de RA dans le sédiment. Le composé 4'-OH-pyriproxifène est un métabolite majeur (> 10 %) dans le sédiment (maximum de 4,8 % et 14,8 % de RA dans l'eau et le sédiment, respectivement).

Les données de toxicité sont disponibles pour les métabolites 4'-OH-pyriproxifène et PYPAC mais aucune donnée n'est disponible pour DPH-PYR. La structure moléculaire de ce métabolite est trop différente des deux autres métabolites pour permettre une extrapolation de leurs données de toxicité (cf. section 2 : Propriétés physico-chimiques - Evaluation du risque pour l'environnement). Cependant, la toxicité de ce métabolite est couverte par l'étude de microcosme qui a duré 8 semaines, car au cours de l'étude eau/sédiments, les pourcentages maximaux de métabolites formés étaient observés sur une période plus courte.

Tableau III.2 : Données de toxicité aiguë du métabolite PYPAC pour les organismes aquatiques

Espèce	Conditions du test	CL/CE <sub>50</sub> (mg s.a./L) <sup>a</sup>	Référence
<b>Poissons</b>			
Truite arc-en-ciel <i>Onchorhynchus mykiss</i>	96 h, statique, test limite, 100 %, CEE C1 & OCDE 203	CL <sub>50</sub> > 93	DAR (2005)
<b>Invertébrés</b>			
<i>Daphnia magna</i>	48 h, statique, test limite, 100 %, CEE C2 & OCDE 202	CE <sub>50</sub> > 95	DAR (2005)
<b>Algues</b>			
<i>Pseudokirchneriella subcapitata</i>	72 h, statique, 100 %, CEE C3 & OCDE 201	CE <sub>b50</sub> = 26 CE <sub>r50</sub> = 30	DAR (2005)

<sup>a</sup> données basées sur les concentrations moyennes mesurées

Tableau III.3 : Données de toxicité aiguë du métabolite 4'-OH-pyriproxifène pour les organismes aquatiques

Espèce	Conditions du test	CL/CE <sub>50</sub> (mg s.a./L)	Référence
<b>Poissons</b>			
Truite arc-en-ciel <i>Onchorhynchus mykiss</i>	96 h, dynamique dans DMF*, 98,6 %, CEE C1 & OCDE 203	CL <sub>50</sub> = 0,27 <sup>a</sup>	DAR (2005)
<b>Invertébrés</b>			
<i>Daphnia magna</i>	48 h, dynamique dans DMF*, 98,6 %, CEE C2 & OCDE 202	CE <sub>50</sub> = 1,8 <sup>a</sup>	DAR (2005)
<b>Algues</b>			

<i>Pseudokirchneriella subcapitata</i>	72 h, dans DMF*, 98,6 %, CEE C3 & OCDE 201	CEb <sub>50</sub> > 2,5 <sup>b</sup> CEr <sub>50</sub> > 2,5 <sup>b</sup>	DAR (2005)
--	--	--	------------

\* diméthylformamide

a donnée basée sur les concentrations moyennes mesurées

b donnée basée sur les concentrations initiales mesurées

L'évaluation de risque conduite pour la substance active couvre aussi les risques liés au métabolite PYPAC dont la toxicité sur les organismes aquatiques est plus faible que celle du parent et dont les CPE (Concentration prévisible dans l'environnement) dans les eaux de surface sont plus faibles que celle du parent. Elle couvre aussi les risques liés au second métabolite, le 4'-OH-pyriproxifène, dont la toxicité sur les organismes aquatiques est plus faible sur les algues et daphnies (espèce la plus sensible) ou du même ordre de grandeur sur les poissons que celle du parent et dont les CPE dans les eaux de surface sont plus faibles que celle du parent.

## 2.1.2 Etude de bioconcentration

### Première étude

Une étude de bioconcentration est résumée dans le DAR (2005) sur le pyriproxifène de novembre 2005.

En conditions dynamiques, 250 crapets arlequin (*Lepomis macrochirus*), ont été exposés séparément à du [U-<sup>14</sup>C-phénoxyphényl]-pyriproxifène (<sup>14</sup>C-PP) ou [2,6-pyridyl-<sup>14</sup>C]-pyriproxifène (ou <sup>14</sup>C-PYR) pendant 28 jours, suivis de 14 jours de dépuración.

Les FBC pour la radioactivité sont de 1 379 et 1 495 L/kg de poids humide pour <sup>14</sup>C-PP et <sup>14</sup>C-PYR, respectivement, et les FBC correspondants pour le pyriproxifène sont 660 et 501 L/kg poids humide.

### Seconde étude

En 1986, une étude a été conduite pour déterminer la bioconcentration, le métabolisme et l'élimination du pyriproxifène chez la carpe (*Cyprinus carpio*). Dans cette étude, aucune directive spécifique ou référence BPL n'ont été mentionnées. Cependant, cette étude a été évaluée par le PSD (Pesticide Safety Directorate), l'organisme réglementaire du Royaume-Uni, responsable des homologations des pesticides, et cette étude est donc résumée dans l'évaluation de la substance active pyriproxifène (Evaluation on pyriproxifene use as a public hygiene insecticide, Issue no.147, Janvier 1996).

### Méthode

Deux groupes de 43 carpes (poids moyen 1,5 g) ont été exposés à une concentration moyenne mesurée de 2 µg/L <sup>14</sup>C pyriproxifène. Le premier groupe a été exposé au pyriproxifène marqué dans le groupe de phénoxyphényl et le deuxième groupe au pyriproxifène marqué aux positions C<sub>2</sub> et C<sub>6</sub> du groupe pyridyl.

L'exposition était de 14 jours dans un système dynamique. Pendant la période d'étude, la température a été maintenue à 25 ± 0.5 °C du, le pH a varié de 7,6 à 7,9, et la dureté de l'eau (en tant que CaCO<sub>3</sub>) était de 60 à 130 ppm.

À la fin de l'exposition, les poissons ont été transférés dans une eau propre pour une période de dépuración de 7 jours. Les poissons et l'eau ont été prélevés pour analyse les jours 1, 3, 7, 10, 12 et 14 de la période d'exposition et les jours 1, 3, 5 et 7 de la période de dépuración.

Pendant la période d'exposition, 3 poissons ont été prélevés à chaque intervalle d'échantillonnage et les concentrations de  $^{14}\text{C}$  et de pyriproxifène dans le corps entier ont été déterminées. Le jour 14, 4 poissons supplémentaires ont été prélevés ; 3 ont été disséqués pour étudier la distribution du  $^{14}\text{C}$  et du pyriproxifène dans le cerveau, la vésicule biliaire, les viscères et la carcasse. Le quatrième poisson a été analysé par autoradiographie du corps entier pour examiner la distribution du  $^{14}\text{C}$  dans la carpe.

Les poissons prélevés durant la période de dépuración ont été analysés en  $^{14}\text{C}$  et pyriproxifène pour le corps entier seulement. L'autoradiographie du corps entier a été conduite le jour 5 de la phase de dépuración. Des coupes transversales des poissons (20  $\mu\text{m}$ ) ont été lyophilisées. Ces coupes ont été alors exposées dans le noir pendant approximativement 1 semaine. Le pyriproxifène et les métabolites possibles ont été détectés par chromatographie sur couche mince (TLC) et LSC.

## Résultats

Le temps pour atteindre la concentration à l'état stationnaire, les facteurs de bioconcentration et les demi-vies de dépuración ont été calculés pour les poissons entiers pour le pyriproxifène et le  $^{14}\text{C}$ .

Tableau III.4 : Bioconcentration et élimination du pyriproxifène chez la carpe

	FBC	Temps pour atteindre 90 % état stationnaire (j)	Temps pour atteindre équilibre (j)	Temps de dépuración t, (j)
Pyriproxifène	350 à 400	2,13 $\pm$ 0,12	3	0,4 à 0,6
Total $^{14}\text{C}$	1 300 à 1 500	1,45 $\pm$ 0,15	3	0,96 à 1,14

Tout au long de la durée de l'étude (21 j), aucun comportement anormal ni aucune mortalité n'ont été observés chez les poissons. Il n'y avait aucune différence significative dans la distribution et l'excrétion entre les deux préparations au  $^{14}\text{C}$ .

Les métabolites  $^{14}\text{C}$  du pyriproxifène sont principalement accumulés dans la vésicule biliaire et les viscères des poissons (FBC 1 300 à 1 500) mais il est peu probable que la bioconcentration soit un problème grâce à la dépuración très rapide ( $t < 1$  jour).

Le pyriproxifène se dégrade dans l'eau, le produit principal de dégradation étant le 4-OH-pyriproxifène, représentant 14 à 27 % du  $^{14}\text{C}$  dans l'eau à l'équilibre. D'autres produits de dégradation étaient présents jusqu'à 8 %.

Dans les poissons entiers, le pyriproxifène représentait 7 à 27 % du  $^{14}\text{C}$  total à la fin de la période d'exposition de 14 jours. Les métabolites principaux dans les poissons pendant la période d'exposition étaient le 4-OH-pyriproxifène (1 à 10 %), le 4-OH-pyr-glu [dérivé acide glucuronique] (23 à 40 %), le 4-OH-pyr-sul [dérivé de sulfate] (7 à 12 %) et le 4-OH-4-phénoxyphénol-sulfate (7 à 11 %). Les niveaux de radioactivité dans les parties disséquées le jour 14 de l'exposition sont présentés dans le tableau suivant.

Tableau III.5 : Distribution de la radioactivité au jour 14

Portion	% Radioactivité
Vésicule biliaire	51 à 55
Viscère	26 à 28
Carcasse	17 à 22
Cervelle	0,5 à 1,3

Les voies principales de métabolisation sont l'hydroxylation sur la position 4 du groupe phénoxyphényl et de la conjugaison du phénol résultant avec de l'acide glucuronique ou sulfate. Le clivage des autres éthers était moins significatif. Les métabolites ont été trouvés principalement dans la vésicule biliaire et les viscères. Le jour 5 de la période de dépuración, quand l'autoradiographie de corps entier a été faite, la majeure partie de la radioactivité était excrétée du corps ; seule une faible part de la radioactivité restait dans la vésicule biliaire et l'intestin.

De ces résultats, l'auteur a conclu que le pyriproxifène et ses métabolites semblaient suivre le cycle entéro-hépatique et sont éliminés du corps des poissons. Le pyriproxifène et ses métabolites sont rapidement excrétés des poissons lors du transfert dans de l'eau propre ( $t \approx 1$  jour).

#### Bioconcentration des métabolites

Aucune donnée expérimentale de log Pow n'est disponible pour les métabolites. Des données de log Pow ont été calculées par l'état membre rapporteur (DAR, 2005) avec deux logiciels : EPIWIN v3.12 (programme de l'US EPA) et Pallas 3.0 (CompuDrug Chemistry Ltd. 1994, 95) : 3,18. Les données issues du DAR (2005) sont résumées dans le tableau suivant.

Tableau III.6 : bioconcentration des métabolites

Composé	Log Pow	FBC
4'-OH-pyriproxifène	5,07	4 949
PYPAC	1,01	1,4
DPH-PYR	3,02	74

Par conséquent, au vu de ces données, le risque de bioconcentration des métabolites PYPAC et DPH-PYR est considéré comme faible.

Le log Pow du métabolite 4'-OH-pyriproxifène, est supérieur à 3. Cependant, le risque de bioconcentration de ce métabolite peut être considéré comme faible pour les raisons suivantes :

- le log Pow du métabolite reste inférieur à celui du parent (5,37) ;
- la CPE<sub>esu</sub> du métabolite est bien inférieur (d'un facteur 20) à celle du parent ;
- la dissipation du métabolite dans la phase eau du système eau/sédiments est extrêmement rapide ( $DT_{90} < 10$  jours) ;
- le risque lié à la bioconcentration du parent est acceptable.

---

## **2.2 EVALUATION DU RISQUE POUR LES ORGANISMES AQUATIQUES**

---

L'évaluation de risques est basée sur le calcul des CPSE (Concentration prévisible sans effet). Pour suivre l'approche décrite dans le TGD (2003), la CPSE est la concentration au-dessous de laquelle aucun effet nuisible n'est prévu. La CPSE est établie à partir des données de toxicité de la substance active, affectées d'un facteur de sécurité approprié donné dans le TGD (2003).

La CPSE désigne une concentration pour laquelle il n'est pas attendu d'effet sur l'ensemble des organismes aquatiques. La CPSE de référence est la valeur jugée la plus appropriée dans le cadre de l'évaluation de risque.

## Evaluation initiale du risque

Selon les recommandations du TGD (2003), un facteur de 10 s'applique lorsque des CSEO issues d'essais long terme sont validées pour au moins trois niveaux trophiques différents. La CSEO la plus basse sert à dériver la CPSE aquatique. Cependant, le facteur 10 n'est appliqué à la CSEO la plus faible que si celle-ci correspond à une espèce pouvant être considérée comme représentative du maillon le plus sensible de l'écosystème.

Concernant la toxicité du pyriproxifène, des données de toxicité chronique sont disponibles pour trois niveaux trophiques différents (poisson, invertébré et algue).

La donnée de toxicité la plus défavorable des études de laboratoire est la CSEO issue de l'étude chronique sur *Daphnia magna* : CSEO =  $15 \cdot 10^{-6}$  mg/L.

Cette donnée ne correspond pas à l'espèce la plus sensible en exposition aiguë puisque la CE<sub>50</sub> est de 0,4 mg/L pour *Daphnia magna*, alors que la CE<sub>50</sub> pour les algues varie de 0,064 à 0,15 mg/L.

Selon le document SANCO/3268/2001 rev.4 (final du 17/10/02) (EC, 2002a), un groupe d'organismes aquatiques est considéré comme plus sensible qu'un autre s'il l'est d'un facteur d'au moins 100.

Par conséquent, nous considérons que la toxicité aiguë pour les invertébrés est du même ordre de grandeur que la toxicité pour les algues, et un facteur 10 est appliqué à la CSEO issue de l'étude sur daphnies.

La forte toxicité du pyriproxifène sur les invertébrés aquatiques n'est pas surprenante puisqu'il s'agit d'un insecticide agissant comme régulateur de croissance. La substance active est classée comme juvénocide et elle interfère avec le développement normal et la reproduction des insectes, ce qui nuit à la métamorphose des stades immatures mais les adultes ne sont pas touchés directement, bien que la production d'œufs viables soit affectée par une activité transovarienne.

Selon les recommandations du TGD (2003), un facteur de sécurité de 10 est affecté à cette CSEO pour la détermination de la CPSE.

$$CPSE_{\text{pyriproxifène}} = 1,5 \text{ ng/L}$$

Or la concentration prévisible dans les eaux de surface calculée dans la section 2 (Propriétés physico-chimiques - Evaluation du risque pour l'environnement) de cette évaluation est de :

$$CPE_{\text{esu}} = 33,3 \text{ } \mu\text{g/L pour une dose appliquée de } 100 \text{ g s.a./ha}$$

$$CPE_{\text{esu}} = 3,3 \text{ } \mu\text{g/L pour une dose appliquée de } 10 \text{ g s.a./ha}$$

Les rapports  $\frac{CPE}{CPSE}$  (= 22 222 et 2 200) calculés dans des conditions très conservatrices conduisent à une préoccupation importante pour les organismes aquatiques dans les conditions proposées d'utilisation.

Les invertébrés aquatiques sont considérés comme les espèces les plus sensibles, à l'exception des larves des insectes, et le risque lié à l'utilisation de pyriproxifène existe pour ces populations.

Cependant, en raison des propriétés environnementales de la substance active (faible solubilité dans l'eau = 0,367 mg/L ; adsorption élevée sur des colloïdes ; dissipation rapide dans la phase l'eau et dans le système entier eau/sédiments, 1,7 et 7,8 jours respectivement), la substance active se dissipe rapidement du milieu aquatique et risque de ne pas être longtemps biodisponible pour les organismes aquatiques. L'impact sur les espèces sédimentaires doit alors être évalué.

L'exposition limitée des organismes à la substance active va en limiter l'impact dans le temps et une récupération du système doit être possible. Une étude de microcosme qui offre des conditions d'exposition plus réalistes permet de définir une Concentration Sans Effet Ecologique Néfaste Observé (NOEAEC), concentration à laquelle (ou en-dessous de laquelle) on n'observe pas d'effets néfastes durables.

### Evaluation affinée du risque

Afin d'affiner le risque pour les organismes aquatiques, nous avons d'une part réévalué le danger en décrivant l'étude de microcosme conduite dans des conditions plus réalistes, et d'autre part réévalué le risque en considérant les rapports  $\frac{CPE}{CPSE}$  pour chaque organisme.

#### a. Etude de microcosme

Une étude de microcosme a été conduite avec application d'une préparation EC à des doses variant de 0,02 à 20 µg s.a./L. Les espèces présentes étaient : algues, cladocères, copépodes, ostracodes et rotifères.

Cette étude de microcosme est détaillée dans le DAR (2005) (point B.9.2.2.1.4) et donc seuls les principaux résultats sont décrits ci-dessous. L'état membre rapporteur a déclaré cette étude valable et que l'espèce *D. galeata*, présente dans l'étude, était plus pertinente pour l'environnement que *D. magna*, absente de l'étude.

La dose la plus forte testée est inférieure à la  $CPE_{esu}$ . Cependant, cette étude permet de voir les effets, notamment à la dose la plus élevée de 20 µg s.a./L, et surtout d'observer s'il y a récupération dans le temps des organismes.

Aucun effet pertinent lié au traitement n'a été observé sur les copépodes et ostracodes. Le traitement a causé un effet direct négatif sur l'abondance de l'espèce la plus sensible *Daphnia galeata* à 20 µg/L et 5 µg/L mais une récupération complète était observée au jour 35 et 7, respectivement. Une réduction significative de la population de cladocères était observée uniquement durant la première semaine à 20 µg/L. Cette réduction ne conduit pas comme nous aurions pu le supposer à une augmentation de chlorophylle-a, ceci probablement à cause de l'augmentation de l'abondance des rotifères. Cette augmentation semble être un effet secondaire.

Mais la plupart des populations de rotifères sont revenus à des niveaux normaux en 42 jours. Seule l'abondance de *K. quadrata* reste élevée à la plus haute dose testée jusqu'à la fin de l'étude. La CSEO du microcosme est basée sur cet effet indirect à long-terme.

Le point final de cette étude est NOEAEC =  $5 \cdot 10^{-3}$  mg/L.

Cependant, cet effet indirect est susceptible d'être transitoire et peut ne pas poser de risque écologique significatif pour les écosystèmes aquatiques naturels. La fonction écologique et la structure de la communauté en plein champ peuvent ne pas être sensiblement affectées, ce qui signifie que la Concentration Sans Effet Ecologique Néfaste Observé (NOEAEC) sera supérieure à la CSEO.

Une CPSE peut être déterminée à partir de cette étude de microcosme. Cependant, les espèces sédimentaires ne sont pas étudiées dans cette étude de microcosme alors que le produit disparaît de l'eau en moins de 7 jours. La  $DT_{50}$  du pyriproxifène estimée dans cette étude est de 0,8 jour.

En appliquant un facteur de sécurité de 4 à la NOAEC, nous pouvons déterminer une CPSE de 1,25 µg/L.

Le rapport  $\frac{CPE}{CPSE}$  (= 27 et 2,7) ne permet pas de conclure à un risque acceptable pour les organismes aquatiques.

b. Calculs des rapports  $\frac{CPE}{CPSE}$  par espèce aquatique

Les CPSE sont calculées pour chaque espèce afin de déterminer quelles espèces sont à risque. Les rapports  $\frac{CPE}{CPSE}$  sont calculés pour toutes les espèces aquatiques :

Tableau III.7 : valeur des rapports CPE / CPSE pour toutes les espèces aquatiques étudiées à la dose maximale d'utilisation du pyriproxifène

Organisme / exposition	CPSE (µg/L)	CPE (µg/L) Dose appliquée = 100 g/ha	$\frac{CPE}{CPSE}$
Poissons / aiguë	8.5	33	> 1
Poissons / chronique	0,43	1,34 (mpt*, 61 j)	> 1
Daphnies / aiguë	4	33	> 1
Daphnies / chronique	0,001 5	3,9 (mpt*, 21 j)	> 1
Algues vertes / aiguë	0,64	33	> 1
Algues vertes / chronique	2	19,2 (mpt*, 3 j)	> 1
Plantes aquatiques / chronique	18	5,8 (mpt*, 14 j)	< 1
Organismes sédimentaires / chronique	1	33	> 1

\* moyenne pondérée par le temps

Les rapports  $\frac{CPE}{CPSE}$ , déterminés pour une application de 100 g s.a./ha (recommandée pour les sites particulièrement infestés) montrent que le risque est inacceptable pour tous les organismes aquatiques, mis à part les plantes aquatiques.

Les rapports  $\frac{CPE}{CPSE}$  sont aussi déterminés pour une application de 10 g s.a./ha, dose appliquée de façon plus usuelle pour un site moyennement infesté.

Tableau III.8 : valeur des rapports CPE / CPSE pour toutes les espèces aquatiques étudiées à la dose usuelle d'utilisation du pyriproxifène

Organisme/exposition	CPSE (µg/L)	CPE (µg/L) Dose appliquée = 10 g/ha	$\frac{CPE}{CPSE}$
Poissons / aiguë	8,5	3,3	< 1
Poissons / chronique	0,43	0,134 (mpt*, 61 j)	< 1
Daphnies / aiguë	4	3,3	< 1
Daphnies / chronique	0,001 5	0,39 (mpt*, 21 j)	> 1
Algues vertes / aiguë	0,64	3,3	> 1
Algues vertes / chronique	2	1,92 (mpt*, 3 j)	< 1
Plantes aquatiques / chronique	18	0,58 (mpt*, 14 j)	< 1
Organismes sédimentaires / chronique	1	3,3	> 1

\* moyenne pondérée par le temps

Pour une dose appliquée de 10 g s.a./ha, le risque est acceptable pour la majorité des espèces aquatiques, mis à part les daphnies et les organismes vivant dans le sédiment en exposition chronique et les algues en exposition aiguë.

### Conclusion générale

En raison des propriétés environnementales de la substance active (faible solubilité dans l'eau, adsorption élevée sur des colloïdes, dissipation rapide dans la phase l'eau et dans le système entier eau/sédiments, 1,7 et 7,8 jours respectivement), cette préparation larvicide appliquée directement sur les systèmes aquatiques disparaît rapidement de la phase aqueuse.

La comparaison des rapports  $\frac{CPE}{CPSE}$  ne permet pas de conclure sur l'absence de risque pour les organismes aquatiques.

Pour les invertébrés aquatiques, une étude plus complexe de microcosme montre une récupération du système à la dose de 20 µg/L. Cependant, la NOAEAC est basée sur l'augmentation des rotifères qui est un effet indirect. Même si cet effet peut ne pas être pertinent au niveau écologique, cette étude ne permet pas de conclure sur l'absence de risque. Il faut noter que la plus haute dose testée durant cette étude est inférieure à la concentration initiale prévue dans les eaux de surface et que les poissons ne sont pas présents dans cette étude.

Par conséquent, des mesures de gestion du risque sont nécessaires telles qu'une modification des propriétés de la préparation, une limitation de l'application à certains usages (container), ...

---

## 2.3 IMPACT SUR LE MILIEU MARIN ET ESTUARIE

---

Aucune donnée n'est disponible concernant la contamination des milieux marins par le pyriproxyfène.

Cependant, à la demande de la Préfecture de la Réunion, la Direction Régionale de l'Environnement (DIREN) de la Réunion a lancé dès le mois de février 2006 une opération d'évaluation de la contamination potentielle du milieu marin et estuarien par les biocides utilisés dans le cadre de la lutte contre le Chikungunya. Cette étude (DIREN, 2006) avait pour objet la réalisation de campagnes d'échantillonnage d'eau de mer, de sédiments et d'organismes aquatiques marins et estuariens en vue de réaliser des analyses des niveaux de contamination par les biocides (DIREN Réunion, 2006).

Deux campagnes d'échantillonnages ont été réalisées au cours du premier semestre 2006. La première campagne (C1) a été réalisée les 21 et 22 février après la première tempête ayant générée une pluviométrie très abondante sur la Réunion. Le premier lessivage de la saison a ainsi pu être pris en compte.

La seconde campagne (C2) a été réalisée du 26 au 28 avril dans une période globalement peu pluvieuse. En raison de la saturation relativement importante des sols suite à un hiver pluvieux, les transferts vers le milieu marin ont néanmoins pu être rapides.

Des échantillons d'eau, de sédiment et de matrices biologiques (oursins, bivalves, poissons marins et poissons d'eau douce) ont été prélevés dans différents sites. Les protocoles d'échantillonnage et les conditions analytiques sont détaillés dans le rapport d'étude.

Les analyses d'eau et de sédiments ont été faites pour 3 insecticides impliqués dans la lutte antivectorielle (LAV) : téméphos, fénitrothion, deltaméthrine.

Pour les matrices animales uniquement, il a par ailleurs été décidé d'étendre les recherches à l'ensemble des molécules appartenant aux groupes analytiques de trois des molécules définies.

Seuls les résultats concernant les 3 insecticides impliqués dans la LAV sont reportés ci-dessous.

Les sites de prélèvement en milieu marin ont été fixés dans les zones d'influence du panache des rivières prioritaires. La sélection a été réalisée en fonction de la densité de zones ayant fait l'objet de traitements par bassin versant entre le 10 mars et le 13 avril (soit après les épisodes pluvieux exceptionnels de l'été).

Les résultats des analyses réalisées sur quatre échantillons d'eau brute n'ont permis de détecter aucune des molécules recherchées (téméphos, fénitrothion, deltaméthrine).

Il convient toutefois de noter qu'il s'agit là d'un échantillonnage extrêmement léger, réalisé afin d'évaluer l'intérêt de la mise en œuvre d'une seconde campagne plus importante. Considérant l'absence de traces des molécules recherchées, en dépit d'un lessivage potentiellement important en raison des pluies très abondantes qui ont précédé les prélèvements, il a été décidé de ne pas relancer d'échantillonnage d'eau de mer et de concentrer les efforts sur les matrices animales et sédimentaires.

On constate également que les trois molécules ayant fait l'objet d'une utilisation dans la LAV n'ont pas été détectées dans les sédiments marins analysés (10 échantillons).

Pour les matrices animales, le premier constat est l'absence d'observation du téméphos et du fénitrothion sur l'ensemble des sites. Ces molécules ne semblent donc pas avoir été accumulées dans les animaux marins. La deltaméthrine a été observée à l'état de trace dans des oursins de la Baie de Saint -Paul lors de la seconde campagne d'échantillonnage. Il s'agit du seul résultat positif observé pour cette molécule sur les 23 échantillons prélevés en

milieux marin et estuarien. Il est important de noter que la quantité mesurée est juste au-dessus du seuil de détection (10 µg/kg). Cette suspicion de présence de deltaméthrine n'a toutefois pas pu être totalement confirmée car il a été impossible de vérifier ce résultat en le croisant avec une analyse au spectromètre de masse, dont le seuil de détection est de 20 µg/kg.

La quasi-absence de cette molécule dans les organismes aquatiques est conforme à la bibliographie qui indique une rapide métabolisation lors de son ingestion par des organismes vivants.

Afin de mettre en relation les résultats des analyses de contamination des organismes aquatiques avec l'intensité des traitements de LAV, une synthèse des données disponibles a été réalisée à l'échelle des bassins versants situés en amont des zones d'étude. Ces bassins versants ont été subdivisés selon une typologie composée de trois zones distinctes :

- la partie aval (« Littoral ») = jusqu'à une distance arbitraire de 1 km du trait de côte
- la partie intermédiaire (« Bas des pentes ») = jusqu'à une altitude de 200 m
- la partie supérieure (« Amont ») = au-dessus de 200 m d'altitude

Pour chacune de ces zones, nous avons pu calculer le pourcentage de ce territoire ayant fait l'objet d'une LAV coordonnée par la Préfecture.

Quatre périodes ont été considérées :

- Période 1 : depuis début décembre 2005 jusqu'au 17 février 2006 (correspondant à la tempête n°9 et au premier échantillonnage)
- Période 2 : du 18 février au 4 mars 2006 (Tempête Diwa)
- Période 3 : du 5 mars au 25 avril 2006 (second échantillonnage)
- Période 4 : du 25 avril au 15 mai 2006

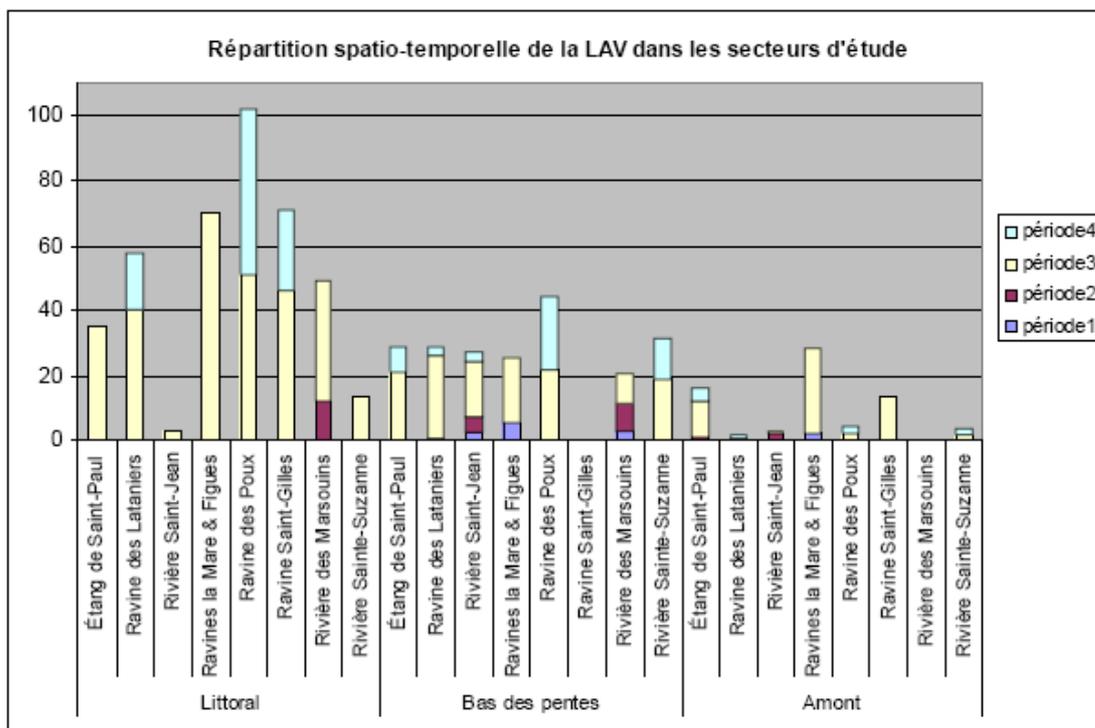


Figure III.1 : répartition des traitements réalisés dans les bassins versants étudiés (légende : Littoral = jusqu'à 1 km du trait de côte ; Bas des pentes = jusqu'à l'altitude 200 m ; Amont = au dessus de 200 m d'altitude ; Période 1 = 01/12/05 au 17/02/06 ; Période 2 = 18/02/06 au 04/03/06 ; Période 3 = 05/03/06 au 25/04/06 ; Période 4 = 26/04/06 au 15/05/06)

Ce graphique illustre bien la montée en puissance progressive des traitements de LAV puisque les traitements cumulés des périodes 1 et 2 ont rarement atteint 15 % de la

superficie des zones (Rivière des Marsouins), alors que la plupart des bassins versants ont fait l'objet de traitements importants à partir de la période 3.

En ce qui concerne les traitements réalisés avant la campagne C1, on constate que dans la plupart des sites étudiés (Ravine des Lataniers, Ravine Saint-Gilles, Ravine des Poux), les bassins versants ayant leur débouché à proximité n'avaient fait l'objet que d'une lutte très marginale, voire d'aucune LAV. Seuls les bassins versants à l'amont du port de Sainte-Marie (Ravines La Mare & Fignes) avaient déjà fait l'objet d'une lutte significative dans le secteur intermédiaire (Bas des pentes). Ces données corroborent le constat d'une absence de traces des trois molécules utilisées dans la LAV lors de cette première campagne d'évaluation.

En ce qui concerne les traitements réalisés entre la fin de la tempête Diwa et la campagne C2 (période 3), on constate que la plupart des bassins versants étudiés (Ravine Saint-Gilles, Ravines La Mare & Fignes, Etang Saint-Paul, Rivière des Marsouins) ont fait l'objet de traitements très importants (plus de 40 % de la surface), en particulier dans la partie inférieure des bassins versants (zones « Littoral » et « Bas des pentes »). La superficie traitée à l'aval des bassins versants de rivières Sainte-Suzanne et Saint-Jean est quant à elle de l'ordre de 20 %.

Une trace de deltaméthrine est suspectée dans des oursins de la Baie de Saint-Paul, dont le bassin versant a fait l'objet de traitements importants au cours de la période 3 (57 % des surfaces traitées dans la partie aval du bassin versant de l'Etang Saint-Paul).

Ce résultat, certes unique – puisqu'aucune autre trace (< 10 µg/kg) de deltaméthrine n'a pu être observée, ni dans les organismes aquatiques, ni dans les sédiments – n'en demeure pas moins très important car, si l'on considère sa structure chimique, il apparaissait quasiment impossible de retrouver cette molécule dans des être vivants.

L'absence de traces de fénitrothion (< 20 µg/kg pour C1 et < 5 µg/kg pour C2) et de téméphos (< 50 µg/kg), à la fois dans les sédiments et les organismes marins, est toutefois une bonne nouvelle compte tenu du caractère potentiellement persistant de ces molécules dans l'environnement aquatique.

A noter toutefois deux éléments complémentaires pour l'interprétation des résultats :

- Les métabolites (oxon notamment) de ces substances n'ont pas été recherchés au cours du présent travail. Si ces molécules venaient à être utilisées de nouveau, la recherche de la molécule mère et de ses métabolites devra être mise en œuvre.
- Ces deux molécules font l'objet d'importations limitées à la Réunion. Elles occupent les rangs 77 et 175 sur 186 molécules. La deltaméthrine est quant à elle beaucoup plus largement utilisée et occupe le 20<sup>ème</sup> rang.

Cette première phase d'évaluation des effets directs potentiels de la LAV contre le Chikungunya en matière de contamination des milieux et des organismes aquatiques met en évidence une quasi-absence de traces de contamination par les molécules utilisées. Il est tout de même important de noter que ces résultats doivent être considérés avec une grande prudence compte tenu de l'échantillonnage limité qui a pu être mis en place en fonction des moyens disponibles et de la durée limitée de cette étude.

Le téméphos était le seul larvicide étudié au cours de ces campagnes. En tant que larvicide, il est directement appliqué sur l'eau comme le pyriproxifène. Au vu des données de dégradation dans le milieu aquatique, le téméphos se dégrade moins rapidement que le pyriproxifène. Par conséquent, l'absence de résidus de téméphos dans le milieu marin et estuarien laisse supposer qu'il soit peu probable qu'il y ait des résidus de pyriproxifène après des applications équivalentes à celles faites avec le téméphos. Toutefois, les coformulants des granulés contenant du pyriproxifène ne sont pas connus et en fonction de leurs propriétés physico-chimiques et de leur interaction avec le pyriproxifène, ils pourraient augmenter le temps de dégradation du pyriproxifène dans l'eau.

---

### 3 IMPACT SUR LES ORGANISMES TERRESTRES NON CIBLES

---

#### 3.1 EFFETS SUR LES OISEAUX ET LES MAMMIFERES

---

Le scénario d'émission proposé par la directive 98/8/CE pour un produit de type PT18 concerne les produits adulticides appliqués sur le sol ou les murs des habitations. Comme le pyriproxifène est un insecticide larvicide, le produit sous forme de granulés contenant du pyriproxifène est directement appliqué sur l'eau et l'évaluation de risque pour ce produit ne rentre pas dans le cas de ce scénario d'émission. Par conséquent, l'évaluation du risque pour les oiseaux lié à l'application de pyriproxifène est conduite selon le document SANCO/4145/2000 (EC, 2002b) applicable aux produits phytosanitaires pour lesquels sont pris en compte l'impact sur les oiseaux lié à l'ingestion d'eau contaminée ou de poissons contaminés.

La préparation est appliquée sous forme de granulés qui ne sont pas pulvérulents et dont la résistance à l'attrition est élevée (WHO, 2006)<sup>21</sup>. Par conséquent, la contamination du sol et des organismes terrestres par la dérive est négligeable (cf. point 6.2.2 de la section 2 : Propriétés physico-chimiques - Evaluation du risque pour l'environnement). Le risque lié à l'exposition des oiseaux et des mammifères qui se nourrissent de plantes ou insectes contaminés est faible.

Deux autres voies d'exposition sont probables :

- les animaux peuvent être exposés au pyriproxifène après avoir absorbé de l'eau qui a été contaminée ;
- les animaux piscivores peuvent être exposés au pyriproxifène en se nourrissant de poissons contaminés. En effet la valeur un peu élevée du log Pow du pyriproxifène peut signifier que ce composé tend à se bioconcentrer dans les tissus des poissons.

##### 3.1.1 Toxicité sur les oiseaux

Des tests de toxicité ont été conduits sur les deux espèces d'oiseaux recommandées par la réglementation sur les produits phytosanitaires (directive 91/414/CEE) : le canard colvert et le colin de Virginie. Les résultats sont présentés dans le tableau suivant. La toxicité est comparable pour les deux espèces et le pyriproxifène n'est pas considéré comme toxique pour les oiseaux.

---

<sup>21</sup> « Poussières » (MT 171, CIPAC Handbook F, p. 425, 1995, Note 2): essentiellement non pulvérulent  
« Résistance à l'attrition » (MT 178 CIPAC Handbook H, p. 304, 1998): minimum: 98 % de résistance à l'attrition

Tableau III.9: Toxicité aviaire du pyriproxifène

Espèce	Conditions	Point final	Résultat	Référence
<b>Toxicité aiguë orale</b>				
Canard colvert <i>Anas platyrhynchos</i>	pyriproxifène technique (95,3 %), EPA 71.1	DL <sub>50</sub>	> 2 000 mg/kg p.c.	WHO (2005)
Colin de Virginie <i>Colinus virginianus</i>	pyriproxifène technique (95,3 %), EPA 71.1	DL <sub>50</sub>	> 2 000 mg/kg p.c.	WHO (2005)
<b>Toxicité court-terme alimentaire</b>				
Canard colvert <i>Anas platyrhynchos</i>	pyriproxifène technique (95,3 %), EPA 71.2	CL <sub>50</sub>	> 4 956 ppm <sup>1</sup> ≈ 1 261 mg s.a./kg p.c./j	Pesticide Manual (2006) DAR (2005)
Colin de Virginie <i>Colinus virginianus</i>	pyriproxifène technique (95,3 %), EPA 71.2	CL <sub>50</sub>	> 4 956 ppm <sup>1</sup> ≈ 863 mg s.a./kg p.c./j	Pesticide Manual (2006) DAR (2005)
<b>Toxicité long-terme (reproduction)</b>				
Canard colvert <i>Anas platyrhynchos</i>	pyriproxifène technique (95,3 %), EPA 71.4	CSE O	> 572 ppm <sup>1</sup> ≈ 70,2 mg s.a./kg p.c./j (M) ≈ 77,6 mg s.a./kg p.c./j (F)	DAR (2005)
Colin de Virginie <i>Colinus virginianus</i>	pyriproxifène technique (95,3 %), EPA 71.4	CSE O	> 572 ppm <sup>1</sup> ≈ 85,0 mg s.a./kg p.c./j (M) ≈ 82,8 mg s.a./kg p.c./j (F)	DAR (2005)

1 conversion calculée à partir des données des études (concentrations dans la nourriture, consommation moyenne et poids corporel moyen)

### 3.1.2 Toxicité sur les mammifères

Les données pertinentes pour l'évaluation du risque pour les mammifères sont résumées dans le tableau suivant.

Tableau III.10 : Toxicité du pyriproxifène pour le rat

Espèce	Conditions	Point final	Résultat	Référence
Rat	Oral, pyriproxifène technique (97,2 %), EPA 81.1	DL <sub>50</sub>	> 5 000 mg/kg p.c.	WHO (2005)
Rat	2 générations reproduction pyriproxifène technique (95,3 %), EPA 83.4	DSEIO* développementale	98 mg/kg p.c./j	WHO (2005), IPCS INCHEM (1999)
		DSEIO* parentale	68 mg/kg p.c./j	
		DSEIO* reproduction	> 340 mg/kg p.c./j	

\*DSEIO - Dose Sans Effet Indésirable Observé

### 3.1.3 Risque pour les organismes consommant l'eau traitée

Les espèces qui fréquentent les zones humides sont susceptibles d'ingérer des résidus de substance en raison du traitement de l'eau avec des granulés de pyriproxifène. Le risque encouru est évalué selon les recommandations du document guide SANCO/4145/2000 (EC, 2002b) pour les produits phytosanitaires.

La concentration d'exposition est dans ce cas égale à la  $CPE_{\text{eau de surface}}$ , déterminée dans la section environnementale de cette évaluation.

$$CPE_{\text{eau de surface}} = 33,3 \mu\text{g/L}$$

Comme le produit est directement appliqué sur l'eau, la concentration d'exposition est calculée à partir de la dose appliquée, sans dilution ni dérive.

L'ingestion quotidienne d'eau est calculée selon les formules suivantes (Calder et Braun, 1983):

$$\text{Pour les oiseaux :} \quad \text{Dose totale d'eau ingérée (L /jour)} = 0,059.W^{0,67}$$

$$\text{Pour les mammifères :} \quad \text{Dose totale d'eau ingérée (L/ jour)} = 0,099.W^{0,90}$$

Où W est le poids du corps en kg.

Par conséquent, la dose quotidienne de substance ingérée est calculée selon la formule suivante :  $(CPE_{\text{eau de surface}} \times \text{Dose totale d'eau ingérée}) / W$ .

Les Ratios Toxicité-Exposition (RTE) sont calculés pour des oiseaux et des mammifères pour lesquels les données de toxicité à long-terme sont disponibles.

Tableau III.11: RTE après consommation de l'eau

Espèce	Poids (kg)	Dose totale d'eau ingérée (L/j)	Dose quotidienne (mg s.a./kg p.c./j)	DSEIO (mg s.a./kg p.c./j)	RTE	Valeur seuil
Oiseau	1,00	0,059	$2,0 \cdot 10^{-3}$	70,2	35 731	> 5
Oiseau	0,01	0,003	$9,0 \cdot 10^{-3}$	70,2	7 817	
Mammifère	0,35	0,038	$3,7 \cdot 10^{-3}$	68	18 571	
Mammifère	0,01	0,002	$5,2 \cdot 10^{-3}$	68	13 015	

Les RTE sont très élevés et largement supérieurs à la valeur seuil (5). Par conséquent, le risque pour les oiseaux et les mammifères terrestres lié à l'absorption d'eau contaminée suite à l'application de pyriproxifène introduit sous forme de granulés est considéré comme acceptable.

### 3.1.4 Risque pour les animaux se nourrissant de poissons

Une valeur de log Pow supérieure à 3 peut signifier un risque de bioconcentration le long de la chaîne trophique. Le log Pow du pyriproxyfène est de 5,37 à 25°C.

Par conséquent le risque de bioconcentration est évalué pour les oiseaux et les mammifères selon le document guide européen SANCO/4145/2000 (EC, 2002b). Les modèles proviennent des travaux de Jager (1998) et de Crocker *et al.* (2002).

Le FBC le plus défavorable est utilisé pour l'évaluation de risque pour les oiseaux se nourrissant de poissons. Les résultats des études de bioconcentration sont reportés au point 2.1.2.

$$FBC_{\text{poisson}} = 1\,495 \text{ (DAR, 2005 ; point B 9.2.2.3)}$$

Les espèces indicatrices recommandées par le document guide (EC, 2002b) sont l'oiseau de 1 000 g et le mammifère de 3 000 g, même si les espèces observées dans cet environnement sont de taille et de poids divers.

Les résidus dans le poisson sont déterminés à partir de la  $CPE_{\text{eau de surface, pondérée}}$  à 21 jours (3,89 µg/L).

$$CPE_{\text{poisson}} = FBC \times CPE_{\text{eau de surface, pondérée}} (21 \text{ j}) \text{ mg/kg poisson}$$

$$CPE_{\text{poisson}} = 1\,495 \times 0,003\,89 = 5,82 \text{ mg/kg poisson}$$

Le résidu de substance dans les poissons  $CPE_{\text{poisson}}$  est ensuite calculé et converti en dose journalière, en supposant qu'un oiseau de 1 000 g consomme 206 g de poisson par jour (conversion préconisée dans le document guide SANCO/4145/2000 (EC, 2002b)) et qu'un mammifère de 3 000 g en consomme 390 g par jour.

La dose journalière est ainsi calculée puis comparée à la CSEO long terme, ce qui permet de déterminer un rapport RTE (ratio toxicité-exposition).

$$\text{Dose quotidienne} = 0,21 \times 5,82 = 1,22 \text{ mg/kg p.c./j pour les oiseaux}$$

$$\text{Dose quotidienne} = 0,13 \times 5,82 = 0,76 \text{ mg/kg p.c./j pour les mammifères}$$

Tableau III.12 : RTE pour les oiseaux et mammifères se nourrissant de poissons

Espèces	$CPE_{\text{esu, 21 j, mpt}}$ (µg/L)	$CPE_{\text{poisson}}$	ETE* (mg/kg pc/jour)	DSEIO (mg/kg pc/jour)	RTE	Valeur seuil RTE
Oiseau	3,89	5,81	1,22	70,2	58	> 5
Mammifère	3,89	5,81	0,76	68	89	

\* Exposition théorique estimée

Les RTE sont largement supérieurs à la valeur seuil de la directive 91/414/CEE (5). Par conséquent, le risque pour les oiseaux et les mammifères terrestres lié à l'ingestion de poissons contaminés suite à l'application de pyriproxyfène est considéré comme acceptable.

### 3.1.5 Risques pour les consommateurs se nourrissant de poissons

Selon les données du GEMS/Food (WHO, 2007), la consommation de poissons d'eau douce est de 5,4 g/j/personne à l'Île Maurice (proche de la Réunion avec des habitudes alimentaires similaires). La concentration prévisible dans le poisson est  $CPE_{\text{poisson}} = CPE_{\text{eau de surface}} \times FBC_{\text{max}} = 33.10^3 \times 1\,495 = 49,8$  mg de pyriproxifène/kg poisson. La consommation de 5,4 g de poisson entraîne l'ingestion de 0,27 mg de pyriproxifène/j/personne. En prenant le cas défavorable d'un enfant de 14 kg, l'ingestion de pyriproxifène serait de 0,02 mg/j/kg, ce qui est inférieur à la Dose Journalière Admissible (DJA) établie à 0,07 mg/kg p.c./j en France (AFSSA, 2000). Par conséquent, nous pouvons considérer que le risque humain après consommation de poissons contaminés est acceptable et que l'emploi de produit contenant du pyriproxifène sur des eaux susceptibles d'alimenter des piscicultures ne devrait pas entraîner de risque inacceptable pour la santé humaine.

## 3.2 EFFETS SUR LES ABEILLES

La toxicité du pyriproxifène sur les abeilles est résumée dans le tableau suivant.

Tableau III.13: Toxicité du pyriproxifène pour les abeilles

<b>Substance testée</b>	Pyriproxifène technique (99,7 %)
<b>Organisme</b>	Abeille domestique <i>Apis mellifera</i>
<b>Conditions</b>	OECD 213/214, 48 h
<b>Contact DL<sub>50</sub> (µg s.a./abeille)</b>	> 100
<b>Oral DL<sub>50</sub> (µg s.a./abeille)</b>	> 100
<b>Référence</b>	WHO (2005)

En théorie, le risque pour les abeilles lié à l'application de la préparation contenant du pyriproxifène est évalué par le calcul des coefficients de risque selon la directive européenne 96/12/CE pour les produits phytosanitaires.

Le quotient de risque (QR) est défini comme le rapport entre la dose maximale d'application exprimée en gramme de substance active par hectare et les DL<sub>50</sub> orale ou de contact exprimées en µg de substance active ou de produit formulé.

Cependant, la préparation est appliquée directement dans l'eau sous forme de granulés qui ne sont pas pulvérulents et dont la résistance à l'attrition est élevée (WHO, 2006)<sup>22</sup>. Par conséquent, la contamination du sol et des organismes terrestres par la dérive est négligeable (cf. point 6.2.2 de la section cf. point 6.2.2 de la section 2 : Propriétés physico-chimiques - Evaluation du risque pour l'environnement).

De plus, le pyriproxifène est non systémique et sélectif vis-à-vis des auxiliaires utilisés en lutte intégrée (*Encarsia*, *Macrolophus*, *Orius*) et des coccinelles et chrysopes.

Le risque pour les abeilles peut être considéré comme négligeable.

<sup>22</sup> « Poussières » (MT 171, CIPAC Handbook F, p. 425, 1995, Note 2): essentiellement non pulvérulent

« Résistance à l'attrition » (MT 178 CIPAC Handbook H, p. 304, 1998): minimum: 98% de résistance à l'attrition

---

### 3.3 EFFETS SUR LES VERS DE TERRE

---

La toxicité du pyriproxifène sur les vers de terre est résumée dans le tableau suivant.

Tableau III.14 : Toxicité du pyriproxifène pour les vers de terre

<b>Substance testée</b>	Pyriproxifène
<b>Organisme</b>	<i>Eisenia foetida</i>
<b>Conditions</b>	14 j
<b>DL<sub>50</sub> (mg s.a./kg sol)</b>	> 1000
<b>Référence</b>	AFSSA (2000)

La préparation est appliquée directement dans l'eau sous forme de granulés qui ne sont pas pulvérulents et dont la résistance à l'attrition est élevée (WHO, 2006). Par conséquent, la contamination du sol et des organismes terrestres par la dérive est négligeable (cf. point 6.2.2 de la section cf. point 6.2.2 de la section 2 : Propriétés physico-chimiques - Evaluation du risque pour l'environnement).

De plus, le pyriproxifène est non systémique.

Par conséquent, le risque pour les vers de terre peut être considéré comme négligeable.

## 4 CONCLUSION GENERALE

Le pyriproxifène est une substance active non systémique qui est utilisée en tant que larvicide directement dans les compartiments aquatiques sous forme de granulé. Par conséquent, la contamination du sol et des organismes terrestres par la dérive est négligeable. Le risque pour les organismes du sol est acceptable.

L'évaluation de risques est basée sur le calcul des CPSE (Concentration prévisible sans effet). Pour suivre l'approche décrite dans le TGD (2003), la CPSE est la concentration au-dessous de laquelle aucun effet nuisible n'est prévu.

Le risque pour les organismes aquatiques est très élevé. La comparaison des rapports CPE/CPSE montre un risque inacceptable aux doses proposées pour la plupart des organismes traités.

En raison des propriétés environnementales de la substance active (faible solubilité dans l'eau, adsorption élevée sur des colloïdes, dissipation rapide dans la phase eau et dans le système entier eau/sédiment, 1,7 et 7,8 jours respectivement), cette préparation larvicide appliquée directement sur les systèmes aquatiques disparaît rapidement de la phase aqueuse.

Pour les invertébrés aquatiques, une étude plus complexe de microcosme a montré une récupération du système à la dose de 20 µg/L. Cependant, la NOAEAC est basée sur l'augmentation des rotifères qui est un effet indirect qui peut ne pas être pertinent au niveau écologique. Il faut tout de même noter que la plus haute dose testée durant cette étude est inférieure à la concentration initiale prévue dans les eaux de surface et que les poissons ne sont pas présents dans cette étude.

Par conséquent, des mesures de gestion du risque sont nécessaires telles qu'une modification des propriétés de la préparation, une limitation de l'application à certains usages (container)...

L'évaluation de la contamination potentielle du milieu marin et estuarien par les biocides (téméphos, fénitrothion, deltaméthrine) utilisés dans le cadre de la lutte contre le Chikungunya a été étudiée (Gardes, 2006). L'absence de résidus de téméphos dans le milieu marin et estuarien laisse supposer qu'il est peu probable qu'il y ait des résidus de pyriproxifène après des applications équivalentes à celles faites avec le téméphos.

Le risque de bioaccumulation pour les oiseaux et les mammifères terrestres se nourrissant de poissons ou consommant de l'eau traitée a été évalué selon le document guide SANCO/4145/2000 (EC, 2002b) appliqué aux produits phytosanitaires. Le risque est considéré comme acceptable pour ces deux types d'exposition.

Tableau III.15 : Récapitulatif de l'évaluation du risque écotoxicologique après application de la préparation contenant du pyriproxyfène

Type d'organisme	Résultat	Valeur seuil	Risque
<b>Aquatiques Général</b>	CPE / CPSE = 22 222	< 1	Elevé
<b>Terrestres Oiseaux</b>	RTE = 35 731		
	<i>Buvant l'eau</i>	> 5	Faible
	<i>Se nourrissant de poissons</i>	> 5	Faible
	<i>Zone adjacente</i>		Négligeable
<b>Mammifères</b>	RTE = 18 571		
	<i>Buvant l'eau</i>	> 5	Faible
	RTE = 13 015		
	<i>Se nourrissant de poissons</i>	> 5	Faible
	<i>Zone adjacente</i>		Négligeable
<b>Abeilles</b>	Contamination improbable	-	Négligeable
<b>Vers de terre</b>	Contamination improbable	-	Négligeable
<b>Micro-organismes du sol</b>	Contamination improbable	-	Négligeable

---

## LISTE DES REFERENCES

**Partie I :** Liste des revues issues des organismes officiels et utilisées pour la constitution de ce document :

- AFSSA (2000) Base de données Agritox : <http://www.dive.afssa.fr/agritox/>
- DAR (2005) Draft Assesment Report pyriproxyfen, Novembre 2005, Volume 3, point B9
- IPCS INCHEM (1999) Pesticide residues in food. Toxicological evaluations. Pyriproxyfen (first draft prepared by K. Fujimori, National institute of health Sciences, Tokyo, Japan)
- PSD (1996), Evaluation on pyriproxyfen use as a public hygiene insecticide, Issue no.147, Janvier 1996
- WHO (2005), WHO specifications et evaluations for public health pesticides – PYRIPROXYFEN, WHO Report 715/2005
- WHO (2006), Pyriproxyfen granules, WHO specification 715/GR (July 2006); WHO specifications and evaluations for public health pesticides

**Partie II :** liste des autres références citées dans ce document

- Crocker DR, Hart A, Gurney J and McCoy C (2002): Methods for estimating daily food intake of wild birds and mammals. Central Science Laboratory, Project PN0908. Final Report. <http://www.pesticides.gov.uk/general/ResearchReports/index.htm>
- DIREN (2006) Suivi environnemental de l'impact potentiel de la lutte antivectorielle mise en oeuvre contre le Chikungunya. Evaluation de la qualité de l'eau, des sédiments et de la contamination d'organismes aquatiques en milieux marin et estuarien. Lionel Gardes, 28 juin 2006
- EC (2002a) SANCO/3268/2001 rev.4 (final du 17/10/02). European Commission Working Document, Guidance Document on Aquatic Ecotoxicology
- EC (2002b) Guidance document on risk assessment for birds and mammals under council directive 91/414/EEC. European Commission, SANCO/4145/2000, 24 September 2002
- Jager T (1998): Mechanistic approach for estimating bioconcentration of organic chemicals in earthworms (Oligochaeta). Environ Toxicol Chem 17, 2080-2090
- TGD (2003) Technical Guidance Document on risk assessment, Institute for Health and Consumer Protection, European Chemical Bureau, EUR 20418 EN/2, 2003
- WHO (2007) Global Environment Monitoring System - Food Contamination Monitoring and Assessment Programme (GEMS/Food)



CEHTRA  
43 rue Laroque  
33560 Sainte Eulalie  
France

Tel (33) 5 57 77 56 10  
Fax (33) 5 57 77 56 20  
[www.cehtra.fr](http://www.cehtra.fr)

# **PYRIPROXYFÈNE**

## **IV-Toxicologie**

**DATE**

**Juillet 2007**

---

**TABLE DES MATIERES**

<b>1. Introduction.....</b>	<b>379</b>
<b>2. toxicocinetique .....</b>	<b>380</b>
<b>3. Toxicité aigue .....</b>	<b>382</b>
<b>4. Tolerance locale .....</b>	<b>382</b>
<b>5. Toxicité Subchronique.....</b>	<b>383</b>
<b>6. Mutagenicite .....</b>	<b>387</b>
<b>7. Etudes chroniques et oncogenicité .....</b>	<b>389</b>
7.1. Etude combinée Toxicité chronique/cancerogénicité chez le Rat.....	389
7.2. Etude combinée Toxicité chronique/cancerogénicité chez la SOURIS.....	389
<b>8. Développement et reproduction.....</b>	<b>390</b>
8.1. Toxicité de la reproduction.....	390
8.2. Teratogenicité .....	392
<b>9. Etudes de neurotoxicité .....</b>	<b>393</b>
<b>10. Effet sur la santé humaine.....</b>	<b>394</b>
<b>11. Selection de la DSEIO et des facteurs de securite pour l'évaluation des risques pour les operateurs ou les accompagnants et personnes presentes.....</b>	<b>395</b>
11.1. Selection de la DSEIO la plus pertinente .....	395
11.2. Selection des facteurs de sécurité les plus pertinents.....	398
<b>12. conclusion generale sur la toxicité de la substance active .....</b>	<b>398</b>

## 1 INTRODUCTION

Dans cette section, les propriétés toxicologiques de la substance active et les résultats des études sont présentés afin de pouvoir sélectionner la dose sans effet indésirable observé la plus pertinente à partir de l'ensemble des résultats expérimentaux présentés. Cette dose de référence ainsi que les facteurs de sécurité dérivés seront ensuite utilisés pour évaluer les risques pour les opérateurs ou les accompagnants et personnes présentes pendant les phases d'application de produit contenant du pyriproxifène dans les conditions susceptibles d'être utilisées à la Réunion pour lutter contre le vecteur du virus du Chikungunya.

Cette évaluation des effets toxicologiques est une synthèse des documents de revue préalablement rédigés par les organismes officiels. Les rapports primaires d'étude n'ont pas été revus par les rédacteurs de ce document.

Les résultats des études de toxicologie sont présentés de manière exhaustive, tels que rapportés dans les revues des organismes officiels.

Le pyriproxifène est un insecticide aromatique non terpénoïde qui mime les hormones juvéniles et interfère avec le développement des insectes. Il est largement utilisé comme larvicide.

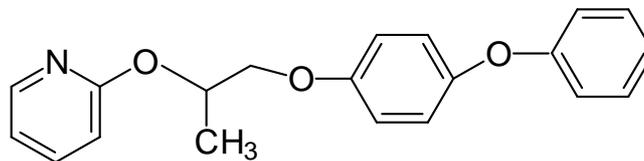


Figure IV.1: Structure du pyriproxifène

## 2 TOXICOCINETIQUE

### **Absorption, distribution et excrétion**

**Dans le cadre d'une étude de distribution**, des groupes de 3 rats mâles et femelles (Sprague-Dawley) ont reçu dans leur nourriture une dose unique de <sup>14</sup>C-pyriproxifène de 2 mg/kg pc (Matsunaga *et al.* 1995 dans IPCS INCHEM, 1999). Le pic de radioactivité dans la plupart des tissus était observé de 2 à 8 h après le traitement, alors que dans les tissus adipeux il était observé après de 12 à 24 h. Au temps correspondant aux pics respectifs, la concentration la plus élevée des tissus examinés était dans le foie (2,1 ppm chez les mâles et 2,5 ppm chez les femelles). Néanmoins, 72 h après le traitement, la concentration la plus élevée était observée dans les tissus adipeux (0,09 ppm). Aucune différence significative liée à la dose administrée ou au sexe de l'animal ne fut observée au niveau des taux d'excrétion ou de la distribution.

**Aucune étude de pénétration transcutanée n'est disponible.** Comme aucune étude de pénétration cutanée n'est disponible, une valeur de pénétration cutanée par défaut de 100 devrait être appliquée. Selon le document guide sur la pénétration cutanée (SANCO/222/2000 rev.7, section 4.1<sup>23</sup>), cette valeur de pénétration par défaut peut être affinée en utilisant les résultats de l'étude d'absorption orale, si l'absorption orale a été déterminée à faible dose sur des animaux cathétérisés au niveau du canal biliaire. On estime alors que l'absorption cutanée ne peut excéder l'absorption orale établie sur les moyennes des canaux biliaires cathétérisés (données non publiées). A faibles doses, l'absorption totale du pyriproxifène a été établie à 63 % chez les rats mâles et 69 % chez les femelles.

Un facteur de pénétration cutanée de 69 % est donc proposé pour l'évaluation d'exposition de l'opérateur.

**Pour l'étude sur l'excrétion biliaire**, des groupes de 3 rats mâles et femelles (Sprague-Dawley) cathétérisés au niveau du canal biliaire, ont reçu dans leur nourriture une dose unique de <sup>14</sup>C-pyriproxifène à la dose de 2 mg/kg pc (Matsunaga *et al.*, 1995 ; Isobe *et al.*, 1988a dans IPCS INCHEM, 1999). L'excrétion biliaire du matériel radioactif représentait de 34 à 37 % de la dose au bout de 48 h après administration. L'excrétion urinaire représentait de 2 à 3 % de la dose et l'excrétion fécale de 38 à 51 %. Le pyriproxifène non métabolisé ne fut pas détecté dans la bile. Les capacités digestives de la flore intestinale ne sont pas prises en compte dans l'estimation du taux d'absorption digestive.

**Dans une autre étude**, des groupes de 3 rats mâles et femelles (Sprague-Dawley) ont reçu dans leur nourriture une dose unique de 1 000 mg/kg pc de [<sup>14</sup>C-phénoxyphényl]-pyriproxifène et la radioactivité retrouvée dans les tissus fut déterminée après 2, 4, 8, 12, 24, 48, et 72 h de traitement (Yoshimo *et al.*, 1993b dans IPCS INCHEM, 1999). Le pic de concentration dans le sang fut atteint après 4 h chez les mâles et 8 h chez les femelles. Les concentrations de radioactivité dans le sang des rats mâles étaient six fois supérieures à celles observées chez les femelles. Pour tous les tissus exceptés les tissus adipeux, le pic de concentration fut observé à 4 h chez les mâles et 8 h chez les femelles. Aux temps correspondants aux pics respectifs, la concentration la plus élevée fut observée dans le foie (1,3 % de la radioactivité totale). Après 72 h de traitement, la concentration la plus élevée était observée dans les tissus adipeux (de 0,2 à 0,3 %). Le pic de concentration en radioactivité dans les graisses fut observé de 12 à 24 h après le traitement puis diminua,

<sup>23</sup> SANCO/222/2000 rev.7 (2004) Guidance document on dermal absorption. European Commission Health and Consumer Protection Directorate-General. 19 March 2004.

avec un  $t_{1/2}$  de 23 h chez les mâles et de 35 h chez les femelles. Les concentrations résiduelles dans les autres tissus furent inférieures à 0,1 %, 72 h après traitement, et le  $t_{1/2}$  était de 5 à 17 h. Aucune différence liée à la dose ne fut observée au niveau la distribution tissulaire du pyriproxifène.

Dans l'étude d'excrétion biliaire, le pyriproxifène inchangé n'a pas été détecté dans la bile. Il est donc très vraisemblable que la molécule parent présente dans les selles ait été excrétée sans absorption préalable au niveau du corps. En conséquence, la quantité totale de pyriproxifène absorbée peut être calculée en soustrayant à 100 % la quantité de produit parent présente dans les selles, donnant ainsi une valeur de 63 à 75 % de pyriproxifène absorbé.

**Dans le cadre d'une étude d'excrétion**, des groupes de 5 rats mâles et femelles (Sprague-Dawley) ont reçu dans leur nourriture une dose unique de  $^{14}\text{C}$ -pyriproxifène marqué sur le partie phénoxyphényle à 2 mg/kg pc (faible dose) ou 1 000 mg/kg pc (forte dose) (Matsunaga *et al.*, 1995 dans IPCS INCHEM, 1999). Le pyriproxifène est rapidement excrété dans les selles et les urines, représentant environ 90 % et de 5 à 11 % de la dose sur 48 h respectivement. La quantité totale de radioactivité retrouvée dans les excréta après 168 h représentait de 92 à 98 % de la dose. L'air expiré contenait moins de 0,5 % de la dose sur 48 h. La radioactivité résiduelle dans les tissus et la carcasse ne représentait pas plus de 0,3 % de la dose 168 h après administration.

### **Métabolisme**

Dans l'étude précédente de Matsunaga *et al.* (1995) (dans IPCS INCHEM, 1999), les caractéristiques métaboliques suivantes furent démontrées: (i) l'excrétion est rapide et complète (ii) les quantités de résidus dans les tissus sont faibles et (iii) les réactions métaboliques principales sont l'hydroxylation en position 4 et 2 du dernier noyau phényle et celle en position 5 du noyau pyridinique, le clivage des liaisons éther, et la conjugaison des phénols résultants avec l'acide sulfurique.

Dans une autre étude, le métabolisme comparatif du pyriproxifène fut examiné chez des souris et des rats ayant reçu une dose orale unique de 2 et 1 000 mg/kg pc de [ $^{14}\text{C}$ -pyridyl] ou de [ $^{14}\text{C}$ -phénoxyphényl]-pyriproxifène. La radioactivité fut excrétée presque complètement dans les urines et les selles au cours des 7 jours suivant le traitement, et l'excrétion fécale fut prédominante dans les deux espèces. L'excrétion dans les selles et les urines fut respectivement de 84 à 97 % et de 4 à 12 % de la dose chez le rat et de 64 à 91 % et de 9 à 38 % chez la souris. Les réactions métaboliques principales furent (1) l'hydroxylation en position 4 du dernier noyau phényle, (2) l'hydroxylation en position 2 du dernier noyau phényle, (3) l'hydroxylation en position 5 du noyau pyridinique, (4) la déphénylation, (5) le clivage des liaisons éther, et (6) la conjugaison des phénols résultants avec l'acide sulfurique ou l'acide glucuronique (Figure IV.2). Bien qu'il n'y ait pas de différence marquée dans le profil métabolique du pyriproxifène entre les deux espèces, des différences significatives liées au sexe de l'animal furent observées pour les réactions métaboliques 1, 3 et 6 chez le rat, mais pas chez la souris.

L'existence de cytochromes P450s exprimés spécifiquement selon le sexe est bien connue dans les microsomes de foie de rat. Les isoformes CYP2C11 et CYP2C13 sont spécifiquement exprimés chez le mâle, alors que le CYP2C12 est exprimé spécifiquement chez la femelle. Dans l'étude *in vitro* de Yoshino *et al.* (1996) (dans IPCS INCHEM, 1999), les résultats montrent que la famille 2C est impliquée dans les réactions métaboliques principales du pyriproxifène chez le rat. Il fut conclu par les auteurs que ces isoformes avaient une responsabilité essentielle dans les différences des profils métaboliques observées chez le rat et liées au sexe.

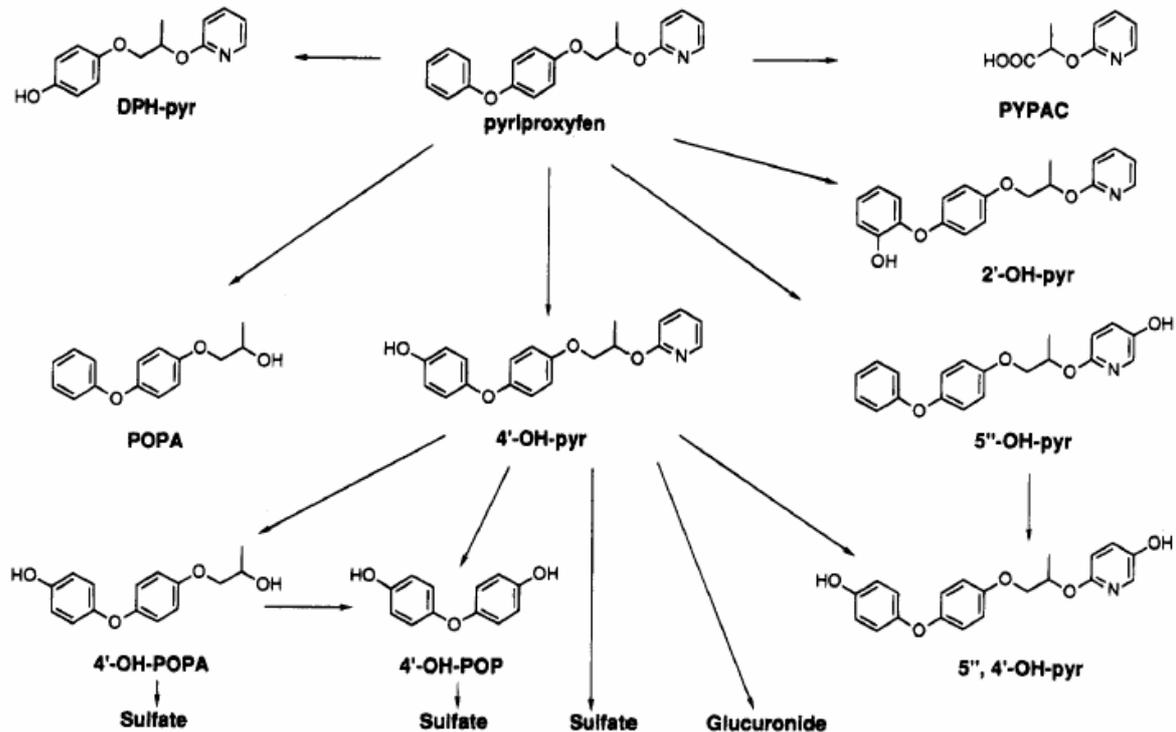


Figure IV.2: Profils métaboliques du pyriproxifène chez le rat et la souris proposés dans l'étude de Yoshino *et al.* (1995) (dans IPCS INCHEM, 1999).

### 3 TOXICITE AIGUE

Le pyriproxifène possède une toxicité aiguë faible avec des DL<sub>50</sub> orales qui sont toutes supérieures à 5 000 mg/kg pc et des DL<sub>50</sub> cutanées qui sont toutes supérieures à 2 000 mg/kg pc (cf. Annexe 1).

La CL<sub>50</sub> du pyriproxifène est supérieure 1,3 mg/L.

### 4 TOLERANCE LOCALE

Le pyriproxifène est faiblement irritant pour les yeux mais non irritant pour la peau chez le lapin. Après une application de 100 mg sur l'œil droit de 3 lapins femelles et de 3 lapins mâles, l'irritation potentielle des yeux est examinée durant 72 h sans lavage des yeux. Dans cette étude, les signes observés (chémosis, rougeur de la conjonctive, écoulement) sont encore présents chez un ou deux animaux après 24 h et ont complètement disparu après 48 h (WHO, 2006 ; IPCS INCHEM, 1999).

Ce composé n'est pas un sensibilisant de la peau chez le cobaye (WHO, 2006 ; IPCS INCHEM, 1999). Six jours après la phase d'induction de la sensibilisation durant laquelle les animaux ont reçu une injection de pyriproxifène à 1 % (dans un mélange adjuvant complet de Freud/eau) ou à 0,5 % (dans de l'huile de maïs), la phase déclenchante fut réalisée en appliquant 0,2 g de pyriproxifène sur la peau durant 24 h. Aucune réaction cutanée ne fut observée.

## 5 TOXICITE SUBCHRONIQUE

**Dans une étude 90 jours chez le rat**, des groupes de 10 rats Sprague-Dawley /sexe/dose ont reçu dans leur nourriture des doses de 400, 2 000, 5 000 ou 10 000 ppm de pyriproxifène (pureté 95,3 %) (équivalent à 23, 120, 310, et 640 mg/kg pc/j pour les mâles et 28, 140, 360, et 780 mg/kg pc/j pour les femelles) (Cox *et al.*, 1990 dans WHO, 2006 ; IPCS INCHEM, 1999). Il n'y a pas eu de mortalité liée au traitement, ni de signe de toxicité ou de changement ophtalmologique quelle que soit la dose, et aucun changement dans la consommation de nourriture ou d'eau. Une diminution significative du poids des animaux des deux sexes a été observée à des doses  $\geq$  5 000 ppm (91 % du contrôle à 5 000 ppm et 88 % à 10 000 ppm à la fin).

Les paramètres érythrocytaires, incluant le comptage des cellules, la concentration en hémoglobine et l'hématocrite, étaient réduits de manière significative chez les animaux ayant reçu des doses  $\geq$  5 000 ppm et chez les mâles à partir de 2 000 ppm. Le volume cellulaire moyen était diminué chez les femelles à 2 000 et 10 000 ppm de moins de 10 %. La concentration en cholestérol total était augmentée significativement et de manière dose-dépendante chez les mâles à des doses  $\geq$  2 000 ppm (150 % à 2 000 ppm, 200 % à 5 000 ppm, et 210 % des valeurs des contrôles à 10 000 ppm) et chez les femelles à des doses  $\geq$  5 000 ppm (130 % à 5 000 ppm et 180 % des valeurs des contrôles à 10 000 ppm). La concentration en lipides plasmatiques était également significativement augmentée chez les mâles à des doses  $\geq$  2 000 ppm (130 % à 2 000 ppm, 180 % à 5 000 ppm, et 180 % des valeurs des contrôles à 10 000 ppm) et chez les femelles à 10 000 ppm (160 % des valeurs des contrôles). Une augmentation significative de l'activité gamma-glutamyl transpeptidase a été observée chez les animaux à 10 000 ppm, mais les activités des autres enzymes plasmatiques n'ont pas été significativement affectées.

Des augmentations significatives de la masse absolue du foie ont été observées chez les animaux à des doses  $\geq$  5 000 ppm (130 % à 5 000 ppm, et 140 % des valeurs des contrôles à 10 000 ppm pour les mâles et 120 % à 5 000 ppm, et 140 % des valeurs des contrôles à 10 000 ppm pour les femelles), et la masse relative du foie était significativement augmentée chez les mâles à 2 000 ppm et chez les animaux des deux sexes à des doses  $\geq$  5 000 ppm (120 % à 2 000 ppm, 140 % à 5 000 ppm, et 170 % des valeurs des contrôles à 10 000 ppm pour les femelles et 130 % à 5 000 ppm et 160 % des valeurs des contrôles à 10 000 ppm pour les femelles). Des augmentations significatives de la masse relative des reins ont été observées chez les animaux à 10 000 ppm, mais les masses absolues sont restées similaires à celles trouvées chez les animaux contrôles quelle que soit la dose administrée. Lors de l'examen histopathologique on a noté une augmentation dose-dépendante des changements cytoplasmiques au niveau du foie dans tous les groupes traités (1/10 à 0 ppm, 2/10 à 400 ppm, 6/10 à 2 000 ppm, 10/10 à 5 000 ppm, et 9/10 à 10 000 ppm pour les mâles et 1/10 à 0 ppm, 2/10 à 400 ppm, 6/9 à 2 000 ppm, 7/10 à 5 000 ppm, et 9/10 à 10 000 ppm pour les femelles). Ces changements cytoplasmiques consistent en de faibles augmentations, souvent équivoques, du contenu cellulaire traduit par une diminution visible du ratio noyau / cytoplasme et une diminution des espaces sinusoidaux.

**La DSEIO (Dose sans effet indésirable observé) est de 400 ppm (23 mg/kg pc/j)** sur la base d'anémie légère, d'augmentations des anomalies hépatiques, des masses relatives du foie, et des taux plasmatiques de lipide (cholestérol et phospholipides) indiquant des effets sur le métabolisme lipidique, observés aux doses plus élevées.

**Dans une autre étude**, des groupes de 21 rats Sprague-Dawley /sexe/dose ont reçu dans leur nourriture des doses de 80, 400, 2 000 ou 10 000 ppm de pyriproxifène (pureté 97,2 %) (équivalent à 4,8, 24, 120, et 680 mg/kg pc/j pour les mâles et 5,4, 28, 140, et 790 mg/kg pc/j pour les femelles) **durant 26 semaines** (Koyama *et al.*, 1989 dans IPCS INCHEM, 1999). Il n'y eut aucun décès lié au traitement, les seuls signes de toxicité observés furent une augmentation du nombre des alopecies autour du cou et des selles molles durant le tout début de l'étude chez les animaux traités à 10 000 ppm. A 10 000 ppm, les poids des animaux étaient significativement réduits durant toute l'étude, de 86 % chez les mâles et 87 % chez les femelles en fin d'étude. On a constaté une diminution marquée des gains de poids à cette dose. Aucun changement relatif au traitement ne fut observé dans la consommation de nourriture ou d'eau.

Une protéinurie, ainsi qu'une augmentation de l'excrétion urinaire en ion potassium ont été observées chez les animaux à 10 000 ppm. Des diminutions faibles mais significatives du nombre d'érythrocyte et de l'hématocrite ont été observées chez les mâles à 2 000 et 10 000 ppm et chez les femelles à 10 000 ppm. La concentration en hémoglobine était également faiblement mais significativement diminuée à cette dose. Des diminutions faibles mais significatives en protéines totales, en albumine, et en urée azotée sanguine ont été observées chez les animaux à 10 000 ppm. Le taux d'albumine et la fraction a<sub>2u</sub>-globuline sont faiblement mais significativement augmentés chez les mâles à 10 000 ppm. Les concentrations en cholestérol total et en phospholipides étaient augmentées de manière significative chez les mâles à 2 000 et 10 000 ppm et chez les femelles à 10 000 ppm. La gamma-glutamyl transpeptidase était significativement augmentée chez les mâles à 10 000 ppm.

On a constaté une augmentation significative des masses absolues du foie chez les animaux traités à 10 000 ppm (130 % des valeurs des contrôles pour les mâles et les femelles), et des masses relatives du foie chez les mâles à des doses  $\geq$  2 000 (110 % à 2 000 ppm et 160 % des valeurs des contrôles à 10 000 ppm) et chez les femelles à 10 000 ppm (100 % à 2 000 ppm et 150 % des valeurs des contrôles à 10 000 ppm). Une augmentation significative des masses relatives des reins a été observée chez les animaux traités à 10 000 ppm, mais les masses absolues n'étaient pas significativement augmentées. Lors de l'examen histopathologique une faible hypertrophie du foie fut constatée chez les animaux traités à 10 000 ppm.

Dans cette étude, **la DSEIO est de 400 ppm (24 mg/kg pc/j)**, sur la base des effets observés aux doses plus élevées, incluant des augmentations de masse relative du foie, des concentrations accrues en cholestérol et en phospholipides indiquant un effet sur le métabolisme lipidique, et des anémies légères.

**Chez la souris**, des groupes de 10 souris ICR/sexe/dose ont reçu dans leur nourriture des doses de 200, 1 000, 5 000 ou 10 000 ppm de pyriproxifène (pureté 95,3 %) (équivalent à 28, 150, 840, et 2 000 mg/kg pc/j pour les mâles et 38, 200, 960, et 2 300 mg/kg pc/j pour les femelles), **durant 13 semaines** (Cox *et al.*, 1990 dans IPCS INCHEM, 1999). On a noté deux morts chez les mâles à 5 000 ppm, ainsi que sept morts chez les mâles et neuf chez les femelles à 10 000 ppm. Les signes cliniques observés chez les animaux morts prématurément étaient un amaigrissement, une posture voûtée et peu voire pas de selles. Aucun signe clinique n'a été observé chez les souris survivantes. On a noté une diminution significative du poids final chez les mâles à 5 000 ppm (89 % du contrôle) et à 10 000 ppm (69 % du contrôle); ainsi que du poids des femelles à 5 000 ppm durant la première moitié de l'étude. Une augmentation de la consommation en eau fut observée chez les mâles traités aux deux plus fortes doses, mais la consommation de nourriture ne fut pas affectée par le traitement.

Les paramètres érythrocytaires, incluant le comptage des cellules, la concentration en hémoglobine, l'hématocrite, le volume cellulaire moyen et le taux cellulaire moyen

d'hémoglobine, sont réduits de manière significative chez les animaux ayant reçu des doses  $\geq 5\ 000$  ppm. Une augmentation des plaquettes est observée chez les animaux des deux sexes à  $5\ 000$  ppm et chez les mâles à  $10\ 000$  ppm. Des augmentations significatives du taux de cholestérol sont observées chez les femelles à des doses  $\geq 1\ 000$  ppm : 130 % à  $1\ 000$  ppm, 210 % à  $5\ 000$  ppm, et 140 % des valeurs des contrôles à  $10\ 000$  ppm. Chez les mâles, les activités aspartate et alanine aminotransférases étaient augmentées d'un facteur allant jusqu'à 2, mais n'ont atteint un effet significatif qu'à  $5\ 000$  ppm.

On a constaté une augmentation significative des masses absolues du foie chez les femelles à des doses  $\geq 5\ 000$  ppm (120 % à  $5\ 000$  ppm et 160 % des valeurs des contrôles  $10\ 000$  ppm). Lors de l'examen microscopique, on a noté des altérations histomorphologiques au niveau des reins, incluant des néphroses tubulaires avec microcytoses, des dilatations tubulaires, des minéralisations localisées et des dilatations des bassins des reins chez les mâles à  $5\ 000$  ppm et chez les animaux des deux sexes à  $10\ 000$  ppm.

**La DSEIO est de  $1\ 000$  ppm ( $150$  mg/kg pc/j),** sur la base des effets observés aux doses plus élevées incluant les décès, une diminution des paramètres érythrocytaires, une diminution de poids corporel, des altérations histomorphologiques au niveau des reins et une augmentation de la masse absolue du foie.

**Dans une étude de 90 jours menée chez le chien,** des groupes de 4 chiens Beagle /sexe/dose ont reçu des capsules de gélatine contenant des doses de 100, 300 ou  $1\ 000$  mg/kg pc/j de pyriproxifène (pureté 97,2 %) (Nakano *et al.*, 1988 dans WHO, 2006 ; IPCS INCHEM, 1999).

Aucun décès ne fut observé. Chez les femelles, on a constaté une faible augmentation du nombre de selles molles à  $1\ 000$  mg/kg pc/j, mais aucun autre signe de toxicité lié au traitement ne fut observé.

Aucun changement dans le poids, le gain de poids, la consommation de nourriture ou les paramètres ophtalmologiques n'a été observé durant l'étude. Aucun changement lié au traitement n'a été observé sur l'électrocardiogramme quelle que soit la dose administrée. Les paramètres hématologiques n'ont pas été modifiés de façon significative à aucune des doses administrées. On a constaté une augmentation significative des concentrations en phospholipides chez les femelles à  $1\ 000$  mg/kg pc/j. Aucune modification des activités des enzymes plasmatiques étudiées n'a été observée, malgré une tendance à augmenter de l'activité phosphatase alcaline chez les mâles à la forte dose, de la lactate déshydrogénase chez les mâles à toutes les doses et chez les femelles à la forte dose, de la créatine phosphokinase chez les mâles à toutes les doses, sans dose-dépendance.

On a constaté une augmentation significative des masses absolues du foie chez les mâles à 300 et  $1\ 000$  mg/kg pc/j, de 30 % et 26 % respectivement, et des masses relatives du foie chez les mâles à  $300$  mg/kg pc/j de 24 %. Une augmentation du nombre d'hypertrophies hépatocellulaires fut observée chez les femelles à  $300$  mg/kg pc/j et chez les animaux des deux sexes à  $1\ 000$  mg/kg pc/j (0/4 dans les contrôles, 0/4 à  $100$  mg/kg pc/j, 0/4 à  $300$  mg/kg pc/j, et 4/4 à  $1\ 000$  mg/kg pc/j chez les mâles, et 0/4, 0/4, 3/4, et 4/4 chez les femelles, respectivement).

A  $1\ 000$  mg/kg pc/j, on a observé une augmentation du nombre de corps éosinophiliques présents dans le foie (0/4 dans les contrôles, 0/4 à  $100$  mg/kg pc/d, 0/4 à  $300$  mg/kg pc/j, et 2/4 à  $1\ 000$  mg/kg pc/j chez les mâles, et 0/4, 0/4, 0/4, et 2/4 chez les femelles, respectivement). L'examen au microscope électronique a révélé une augmentation minimale voire faible de la dilatation du réticulum endoplasmique lisse dans le foie des animaux traités à  $1\ 000$  mg/kg pc/j. Ces modifications sont cohérentes avec l'induction des enzymes

hépatiques liées au produit. Aucune modification histopathologique liée au traitement ne fut observée dans les reins.

Dans cette étude, **la DSEIO est de 100 mg/kg pc/j** sur la base des masses accrues (absolue et relative) du foie et de l'augmentation du nombre d'hypertrophies hépatocellulaires, observées aux doses plus élevées.

**Dans une étude d'un an menée sur le chien**, 4 chiens Beagle ont reçu des capsules de gélatine contenant des doses de 30, 100, 300 ou 1 000 mg/kg pc/j. de pyriproxifène (pureté 94,3 %) (Chapman *et al.*, 1991 dans WHO, 2006 ; IPCS INCHEM, 1999).

Deux mâles traités à 1 000 mg/kg pc/j ont été sacrifiés les semaines 17 et 31 du traitement. Ils présentaient une perte aiguë de poids et, dans un cas, une insuffisance hépatique. Une faible augmentation de la fréquence de salivation et de diarrhée fut observée chez les animaux traités à 1 000 mg/kg pc/j, et un amaigrissement a été observé chez les mâles à des doses  $\geq$  300 mg/kg pc/j. Des gains de poids corporel significativement réduits ont été observés à des doses  $\geq$  300 mg/kg pc/j.

Plusieurs paramètres hématologiques ont été significativement modifiés pouvant indiquer une faible anémie. Le nombre de plaquettes fut augmenté de manière significative chez les mâles à des doses  $\geq$  100 mg/kg pc/j, et chez les femelles à 1 000 mg/kg pc/j, et tout au long de l'étude. Une augmentation significative des activités des enzymes plasmatiques a été constatée à des doses  $\geq$  300 mg/kg pc/j (AP) ou  $\geq$  1 000 mg/kg pc/j (ALT, AST), et durant toute l'étude. Les taux plasmatiques de cholestérol et de triglycérides sont augmentés de manière significative et dose-dépendante, à partir 30 et 100 mg/kg pc/j respectivement, et tout au long de l'étude.

On a constaté une augmentation significative des masses absolues et relatives du foie chez les mâles à partir de 100 mg/kg pc/j (150 % de la valeur contrôle) et 30 mg/kg pc/j (130 %) respectivement, et chez les femelles à des doses  $\geq$  300 mg/kg pc/j (150 % pour les masses absolues). Des augmentations significatives des masses absolues et relatives de la thyroïde ont été rapportées chez les femelles à 300 et 100 mg/kg pc/j respectivement.

**Aucune DSEIO** ne fut établie lors de cette étude, suite aux augmentations de taux de cholestérol et de masses absolue et relative du foie observées à la plus faible concentration testée.

**Lors d'une étude complémentaire**, 4 chiens Beagle ont reçu des capsules de gélatine contenant des doses de 0, 3 ou 10 mg/kg pc/j. de pyriproxifène (pureté 95,3 %) **pendant un an** (Mitchell *et al.*, 1993 dans WHO, 2006 ; IPCS INCHEM, 1999).

Il n'y eut aucun décès, ni signe clinique de toxicité ou changement dans le poids corporel, le gain de poids ou la consommation de nourriture. Une augmentation significative de plaquettes a été observée chez les mâles à 3 et 10 mg/kg pc/j, sans dose-dépendance claire. On a constaté un temps de prothrombine allongé chez les mâles quelle que soit la dose administrée. Chez les femelles, les quantités de plaquettes étaient également significativement réduites à 10 mg/kg pc/j et le temps de prothrombine faiblement mais significativement allongé aux deux doses à la fin de l'étude. De faibles augmentations du taux de triglycérides (mais significatives) furent rapportées chez les mâles à 10 mg/kg pc/j.

On a noté une augmentation faible mais significative de la masse absolue du foie chez les femelles à 10 mg/kg pc/j. Aucune modification histopathologique ne fut trouvée quel que soit l'organe, incluant le foie et les reins.

La variation moyenne du nombre de plaquettes observée chez les contrôles dans d'autres études menées dans ce laboratoire était de 273-357 chez les mâles et 305-357 chez les

femelles, alors que celles de cette étude furent de 341-367 chez les contrôles, 414-462 à la faible dose, et 415-456 à la forte dose chez les mâles, et 321-384 chez les contrôles et 430-478 à la forte dose chez les femelles. Dans ce contexte, le nombre accru de plaquettes et le temps de prothrombine allongé pouvaient être attribués au traitement, bien qu'aucune augmentation du nombre de plaquettes ne fût observée chez les animaux traités à 30 mg/kg pc/j dans l'étude précédente.

Sur la base des résultats obtenus dans les deux études d'un an chez le chien, **la DSEIO systémique est de 10 mg/kg pc/j** basée à la fois (i) sur l'absence de toxicité liée au traitement rapportée dans l'étude de Mitchell *et al.* (1993) et (ii) sur les modifications du métabolisme lipidique et sur l'augmentation de la masse du foie observées à 30 mg/kg pc/j dans l'étude de Chapman *et al.* (1991).

## 6 MUTAGENICITE

L'effet du pyriproxifène sur plusieurs souches bactériennes a été testé (WHO, 2006 ; IPCS INCHEM 1999).

Malgré une cytotoxicité prononcée, caractérisée par une diminution de l'indice mitotique et un retard du cycle cellulaire observés à des doses  $\geq 30$  mg/mL sans S9, et à 100 mg/mL avec S9, aucune augmentation du nombre total d'aberrations structurales ou de la fréquence des cellules ayant des aberrations ne fut observée quelle que soit la concentration testée.

Dans le test *in vivo* de formation de micronoyaux chez la souris, une dose unique de pyriproxifène à 5 000 mg/kg pc a conduit à une augmentation faible mais non significative des érythrocytes polychromatiques micronucléés.

Il a été conclu que le pyriproxifène n'était pas génotoxique *in vivo* et *in vitro*.

Tableau IV.1 : Résultats des études de mutagénicité

Test	Espèce	Conditions	Résultat	Référence
Test d'Ames <i>In vitro</i>	<i>Salmonella typhimurium</i> / <i>Escherichia coli</i>	10, 50, 100, 500, 1 000, or 5 000 µg/plaque (avec et sans S9)	Négatif	WHO (2006)
Réparation de l'ADN <i>In vitro</i>	<i>Bacillus subtilis</i> M45, H17	673-21 500 µg dans DMSO/disque	Négatif	IPCS INCHEM (1999)
Aberrations chromosomiques <i>In vitro</i>	CHO-K1 (cellules ovariennes de hamster chinois)	avec S9: 30, 100, ou 300 µg/mL sans S9: 10, 30, ou 100 µg/mL	Négatif	WHO (2006)
Mutation génétique <i>In vitro</i>	V79 (cellules pulmonaires de hamster chinois)	avec S9: 30, 100, ou 300 µg/mL sans S9: 10, 30, ou 100 µg/mL	Négatif	WHO (2006)

---

UDS <i>In vitro</i>	cellules épithéliales humaines Hela S3	0.1-205 µg/mL	Négatif (cytotoxicité et inhibition de la synthèse de l'ADN)	IPCS INCHEM (1999)
Test du micronoyau <i>In vivo</i>	Cellules de moelle osseuse de souris	5 000 mg/kg pc (intrapéritonéale)	Négatif	WHO (2006)

## 7 ETUDES CHRONIQUES ET ONCOGENICITE

### 7.1 ETUDE COMBINEE TOXICITE CHRONIQUE/CANCEROGENICITE CHEZ LE RAT

Des groupes de 50 rats Sprague-Dawley /sexe/groupe ont reçu dans leur nourriture des doses de 0, 120, 600, ou 3 000 ppm de pyriproxifène (pureté 95,3 %) (équivalant à 0, 5,4, 27, et 140 mg/kg pc/j pour les mâles et 0, 7.0, 35, ou 180 mg/kg pc/j pour les femelles) durant 2 ans (Osheroff *et al.*, 1991a,b dans WHO, 2006 ; IPCS INCHEM, 1999).

Aucun effet lié au traitement ne fut observé sur le taux de décès, les signes cliniques, les mesures ophtalmiques, la consommation de nourriture et les paramètres de l'analyse urinaire. Une faible diminution de poids a été observée chez les mâles les semaines 13, 26, 50, et 78, et chez les femelles les semaines 13, 26 et 50, à 3 000 ppm. La moyenne des gains de poids est significativement réduite chez les femelles à 600 ppm et chez les animaux des deux sexes à 3 000 ppm tout au long de l'étude.

L'activité transpeptidase était significativement augmentée chez les mâles à 3 000 ppm à la fin de l'étude, et chez les femelles à 600 et 3 000 ppm les semaines 26 et 52. On a observé des concentrations accrues en cholestérol total, et de manière significative, chez les mâles traités à 3 000 ppm les semaines 26 et 52.

On a noté une augmentation significative de la masse relative du foie chez les femelles à 3 000 ppm (120 % du contrôle). Aucune des altérations morphologiques rapportées à la fin de l'étude ne fut considérée ni significative sur le plan biologique, ni liée au traitement. L'examen histopathologique ne révéla aucun signe d'altérations néoplasiques.

Pour la toxicité chronique, **la DSEIO (systémique) est de 600 ppm (35 mg/kg pc/j)** sur la base d'une réduction de poids et de gain de poids, et de l'augmentation de masse relative du foie, observées à 3 000 ppm.

### 7.2 ETUDE COMBINEE TOXICITE CHRONIQUE/CANCEROGENICITE CHEZ LA SOURIS

Des groupes de 60 souris ICR/sexe/groupe ont reçu dans leur nourriture des doses de 0, 120, 600, ou 3 000 ppm de pyriproxifène (pureté 95,3 % ; 97,6 - 98,7 % concentration diététique) (équivalent à 0, 16, 81, ou 420 pour les mâles et 0, 21, 110, ou 5 300 mg/kg pc/j pour les femelles) durant 18 mois (Osheroff *et al.*, 1991a ; Cardy *et al.*, 1994 dans WHO, 2006 ; IPCS INCHEM, 1999).

On a constaté une augmentation dose-dépendante et significative du taux de mortalité chez les mâles à 600 et 3 000 ppm (43 % à 0 ppm, 55 % à 120 ppm, 72 % à 600 ppm, et 82 % à 3 000 ppm) et chez les femelles à 3 000 ppm (39 % à 0 ppm, 44 % à 120 ppm, 55 % à 600 ppm, et 64 % à 3 000 ppm). Des diminutions significatives du poids, du gain de poids et/ou de la consommation de nourriture furent rapportées chez les mâles traités à 3 000 ppm.

Aucun effet lié au traitement ne fut observé sur les paramètres hématologiques.

L'examen histopathologique des animaux décédés révéla une augmentation significative des cas d'amyloïdose systémique au niveau de l'estomac glandulaire chez les mâles à 600 et 3 000 ppm, et au niveau des glandes surrénales, de la thyroïde, du cœur, des reins, du foie, de l'estomac glandulaire, et du duodénum chez les femelles à 3 000 ppm. Une relation effet-dose fut trouvée entre l'amyloïdose généralisée et le taux de mortalité. Une analyse statistique de l'incidence des amyloïdoses révéla une tendance positive et significative pour l'amyloïdose rénale chez les femelles et une tendance positive et significative pour

l'amyloïdose hépatique chez les animaux des deux sexes à 3 000 ppm. A cette dose les femelles avaient une augmentation du nombre d'infiltrations lymphocytaires dans le foie (22/59 à 0, et 34/60 à 3 000 ppm) et de minéralisations tubulaires (3/59 à 0 et 46/60 à 3 000 ppm). Un dépôt d'amyloïde sur les reins a provoqué de nombreuses modifications pathologiques incluant la minéralisation tubulaire et la nécrose papillaire. Dans cette étude, les cas de minéralisation papillaire et d'atrophie corticale segmentaire ont été augmentés indépendamment des amyloïdoses chez les femelles à 3 000 ppm, suggérant que la néphropathie chronique était directement liée au traitement. Aucune augmentation statistiquement significative des cas de tumeur ne fut observée quelle que soit la dose testée (et cela jusqu'à 3 000 ppm), ou le sexe de l'animal.

Dans cette étude, **la DSEIO est de 120 ppm (16 mg/kg pc/j)**, sur la base de l'augmentation de mortalité observée à 600 ppm.

Dans cette étude, l'EPA considère que la DSEIO systémique est de 600 ppm sur la base des lésions rénales observées chez les mâles à 3 000 ppm (EPA-PEST, October 1999, day-21, p27398).

## 8 DEVELOPPEMENT ET REPRODUCTION

### 8.1 TOXICITE DE LA REPRODUCTION

Dans une étude de reproduction sur deux générations, des groupes de 26 rats Sprague-Dawley /sexe/dose ont reçu dans leur nourriture des doses de 0, 200, 1 000 ou 5 000 ppm de pyriproxifène (pureté 95,3 %). Le traitement fut maintenu durant l'accouplement, la parturition et la lactation (Robinson *et al.*, 1991 dans WHO, 2006 ; IPCS INCHEM, 1999).

Les animaux parents (F0 et F1) ne montrèrent aucun changement lié au traitement au niveau des signes cliniques, du taux de mortalité, des paramètres de reproduction, ou du cycle oestral. On a constaté une diminution significative du poids et du gain de poids chez les animaux F0 et F1 à 5 000 ppm durant la période précédant l'accouplement, durant la gestation et la lactation. A cette dose, la consommation de nourriture était significativement réduite chez les femelles F0 et F1 durant la gestation et chez les mâles F1 durant le traitement.

On a constaté une augmentation significative des masses absolues du foie chez les animaux parents F1 à 5 000 ppm (110 % chez les mâles et 120 % chez les femelles). Une augmentation significative de la masse relative du foie fut observée chez les mâles F1 à des doses  $\geq$  1 000 ppm (110 % à 1 000 ppm; 130 % à 5 000 ppm), et à 5 000 ppm chez les femelles F1 (130 %). L'examen histopathologique a montré localement une augmentation de cellules claires au niveau du foie chez les mâles F1 à 5 000 ppm, mais cet effet est couramment observé chez les rats mâles et fut considéré comme non lié au traitement. Des augmentations significatives de la masse relative des reins furent observées chez les mâles F1 à 1 000 ppm (110 % des valeurs des contrôles) et 5 000 ppm (110 %), mais les masses absolues ne furent pas augmentées de manière significative quelle que soit la dose administrée.

Les rats F1 et F2 ne montrèrent aucun changement lié au traitement pour les signes cliniques, le ratio entre les sexes, l'index de viabilité ou l'index de lactation. Des réductions significatives de poids ont été rapportées chez les nouveau-nés femelles F1 et F2 les jours 14 et 21 *post partum* à 5 000 ppm, et seulement le jour 21 *post partum* chez les mâles nouveau-nés F1. Aucune altération pathologique macroscopique liée au traitement ne fut observée quelle que soit la dose.

Dans cette étude, **la DSEIO pour la toxicité systémique est de 1 000 ppm (68 mg/kg pc/j)** sur la base des effets observés à 5 000 ppm incluant une réduction de poids et de gain de

poids chez les animaux des deux sexes et des deux générations, une diminution de consommation de nourriture chez les femelles durant la gestation et une augmentation de la masse du foie chez les animaux des deux sexes associée à un effet histopathologique sur le foie chez les mâles.

**La DSEIO pour la toxicité de la reproduction est de 5 000 ppm (340 mg/kg pc/j)**, la dose testée la plus élevée. Aucune LOAEL ne peut être établie.

**La DSEIO pour la toxicité du développement est de 1 000 ppm (98 mg/kg pc/j)** sur la base des diminutions de poids rapportées chez les nouveau-nés des deux sexes et des deux générations.

**Dans une étude de segment 3 menée chez le rat (Sprague-Dawley)**, 23-24 femelles gravides ont reçu par gavage des doses de 0, 30, 100, 300 ou 500 mg/kg pc/j de pyriproxifène (pureté 97,2 %) dissous dans de l'huile de maïs, à partir du 17<sup>ème</sup> jour de gestation et jusqu'au 20<sup>ème</sup> jour *post partum* (Saegusa *et al.*, 1988b dans IPCS INCHEM, 1999).

Des décès ont été rapportés à 500 mg/kg pc/j. Une incidence accrue de diarrhée et de salivation a été observée à des doses  $\geq$  300 et 100 mg/kg pc/j respectivement. Le poids fut significativement réduit à 500 mg/kg pc/j durant la gestation. Le gain de poids et la consommation de nourriture ont été significativement réduits à des doses  $\geq$  300 mg/kg pc/j.

On a constaté une augmentation significative des masses absolues et relatives du foie à des doses  $\geq$  300 mg/kg pc/j. Une atrophie du thymus, une congestion du foie et des reins, une hypertrophie des glandes surrénales et une atrophie de la rate, furent observés à 500 mg/kg pc/j, et un nombre accru d'animaux mort-nés a été noté à cette dose. Le poids des nouveau-nés en vie était significativement réduit pour des doses  $\geq$  300 mg/kg pc/j.

A 500 mg/kg pc/j, le taux de survie de la descendance F1 était significativement diminué les jours 0-4 *post partum*, et le taux de sevrage était réduit les jours 4-21 *post partum*. Des diminutions significatives de poids chez les nouveau-nés F1 furent observées les jours 0-49 et le jour 56 *post partum* pour des doses  $\geq$  300 mg/kg pc/j. Tous les indices de développement physique étaient significativement retardés et un faible retard dans la différenciation sexuelle fut observé à des doses  $\geq$  300 mg/kg pc/j. Les anomalies au niveau des viscères, incluant une dilatation des bassinets des reins et une hyperémie et/ou une filtration de cellules inflammatoires, ont été significativement augmentées le 21<sup>ème</sup> jour à 30, 300 et 500 mg/kg pc/j. L'incidence de la dilatation des bassinets des reins fut significative à des doses  $\geq$  300 mg/kg pc/j (14 % par rapport à 0 % chez les contrôles), et celle de l'hyperémie et/ou de la filtration de cellules inflammatoires fut significative à 500 mg/kg pc/j (12 % par rapport à 0 % chez les contrôles). Bien que le poids absolu de tous les organes des nouveau-nés F1 fût significativement diminué le 21<sup>ème</sup> jour, aucun changement lié au traitement ne fut encore observé le 56<sup>ème</sup> jour. Les modifications du poids des organes pourraient être dues au retard observé dans le développement physique. Les capacités de déplacements étaient également faiblement mais significativement augmentées à des doses  $\geq$  100 mg/kg pc/j.

Chez les femelles gravides F1, le nombre d'implantations (9,2 par rapport à 12 chez les contrôles) et le nombre de fœtus en vie (8,5 en comparaison de 12 chez les contrôles) sont significativement réduits à 500 mg/kg pc/j.

**La DSEIO pour la toxicité maternelle est de 100 mg/kg pc/j** sur la base des effets observés à 300 mg/kg pc/j incluant des signes de toxicité, une réduction de poids, de gain de poids et de consommation de nourriture, et une diminution du poids des nouveau-nés.

**La DSEIO pour la toxicité de la reproduction chez les animaux F1 est de 300 mg/kg pc/j**, sur la base de la réduction du nombre d'implantations et du nombre moyen de fœtus en vie rapportés à 500 mg/kg pc/j.

**La DSEIO pour la toxicité du développement est de 100 mg/kg pc/j** sur la base de la diminution de poids, du retard du développement physique et sur l'augmentation du nombre d'anomalies viscérales, rapportés chez la descendance à 300 mg/kg pc/j.

---

## 8.2 TERATOGENICITE

---

**Dans une étude de tératogénicité réalisée par voie orale chez le rat**, des groupes de 36 femelles Sprague-Dawley gravides ont reçu par gavage des doses de 0, 100, 300, ou 1 000 mg/kg pc/j (42 animaux) de pyriproxifène (pureté 97,2 %) dissous dans de l'huile de maïs, durant la gestation du jour 7 au jour 17 (Saegusa *et al.*, 1988b dans IPCS INCHEM, 1999).

A 1 000 mg/kg pc/j, 12 des femelles sur 42 sont mortes entre le jour 11 et le jour 16. Des signes de toxicité, incluant des diarrhées, des érythèmes et des tuméfactions de la région anale, une hypoactivité, un amaigrissement, une hypothermie, des larmes et une piloérection, furent observés à cette dose. Des signes de toxicité furent observés à 300 mg/kg pc/j pour un animal. On a constaté des réductions significatives de poids et de gain de poids à 300 et 1 000 mg/kg pc/j durant la gestation et à 100 mg/kg pc/j durant le traitement. La consommation de nourriture fut significativement réduite à des doses  $\geq$  100 mg/kg pc/j durant le traitement, et la consommation d'eau fut augmentée significativement et de manière dose-dépendante à des doses  $\geq$  300 mg/kg pc/j.

On a constaté une atrophie du thymus et un grossissement des glandes surrénales chez les femelles décédées et celles sacrifiées au 21<sup>ème</sup> jour de gestation à 1 000 mg/kg pc/j. Chez les femelles sur lesquelles les foetus ont été prélevés chirurgicalement le 21<sup>ème</sup> jour de la gestation, une augmentation faible mais significative de la masse relative du foie et des reins a été observée à 300 mg/kg pc/j et plus, mais aucune augmentation des masses absolues ne fut observée à cette dose. A 1 000 mg/kg pc/j, les masses absolues des reins et des glandes surrénales furent significativement augmentées, et la masse absolue du thymus significativement réduite. Il n'y eut aucune différence au niveau du nombre de corps jaunes ou d'implantations, ou sur le taux d'implantation. Durant la lactation, le poids et le gain de poids furent significativement réduits chez les mères à 300 et 1 000 mg/kg pc/j. Il n'y eut aucune modification liée au traitement au niveau du nombre de nouveau-nés en vie, ou de la durée de la gestation ou encore du taux de mise bas.

Aucun changement dans le ratio foetal des sexes, le poids des placentas, ou le poids des foetus ne fut observé. On n'a pas constaté d'augmentation de l'incidence des anomalies externes des viscères ou du squelette liée au traitement. Une augmentation significative du nombre de foetus ayant des variations du squelette, consistant en une ouverture du trou transversaire de la 7<sup>ème</sup> vertèbre cervicale, fut rapportée à 300 et 1 000 mg/kg pc/j (0 % chez les contrôles et 1,5 %, 5 %, et 14 % aux trois doses, respectivement). Une augmentation du nombre de foetus ayant une vertèbre lombaire surnuméraire fut observée à 1 000 mg/kg pc/j, mais cette observation était non significative.

La descendance F1 n'a montré aucun effet lié au traitement au niveau de la survie, du taux de sevrage ou des poids. Il n'y eut aucun effet postnatal lié au traitement sur le développement physique, la différenciation sexuelle, les fonctions sensorielles, le comportement émotionnel ou la coordination motrice. Un retard significatif au niveau du temps nécessaire pour atteindre à la nage la sortie d'un labyrinthe formé de nombreux T fût observé chez les femelles à 1 000 mg/kg pc/j, mais cette faible réduction dans le comportement d'apprentissage ne fut observée que dans le second des trois essais

quotidiens. Il n'y eut aucune déficience au niveau des performances de reproduction des générations F1 quelle que soit la dose administrée. Aucune anomalie externe ne fut observée chez les générations F2.

Chez les nouveau-nés F1 sacrifiés 21 jours après leur naissance, aucune anomalie externe ou du squelette ne fut observée. Dans la descendance F1 sacrifiée à 56 jours une augmentation de l'incidence des anomalies au niveau des viscères fut rapportée à 1 000 mg/kg pc/j (0/46 chez les contrôle et 7/39 à 1 000 mg/kg pc/j). Une incidence accrue de la dilatation des bassinets des reins a été constatée à 1 000 mg/kg pc/j chez les F1 sacrifiés à 21 et 56 jours. L'incidence totale de la dilatation des bassinets des reins des descendants F1 (sacrifiés à 21 et 56 jours et à la fin du test de fertilité) fut augmentée de manière dose-dépendante (0/98 chez les contrôle et 1/95, 3/85, et 9/79 au trois doses, respectivement). L'incidence de protusion ou d'adhésion partielle de parenchyme hépatique du côté du diaphragme fut également augmentée à 1 000 mg/kg pc/j (1/98 chez les contrôles et 0/95, 2/85, et 6/79 au trois doses, respectivement). Ces anomalies n'ont pas été observées chez les fœtus prélevés chirurgicalement.

Sur la base de la diminution de gain de poids observée à toutes les doses, **aucune DSEIO pour la toxicité maternelle** n'a pu être établie.

**La DSEIO pour la toxicité de la reproduction est de 1 000 mg/kg pc/j** (concentration testée la plus élevée). Aucune LOAEL de la reproduction n'a pu être établie.

**La DSEIO pour la toxicité du développement est de 300 mg/kg pc/j** sur la base de l'augmentation de l'incidence des variations du squelette chez les foetus et des variations des viscères dans la descendance à 1 000 mg/kg pc/j.

**Dans une étude de tératogénicité menée sur lapin**, des groupes de 15-18 femelles JW-NIBS gravides ont reçu par gavage des doses de 0, 100, 300, ou 1 000 mg/kg pc/j (42 animaux) de pyriproxifène (pureté 97,2 %) dissous dans de l'huile de maïs, durant la gestation du jour 6 au jour 18 (Hirohashi *et al.*, 1988 dans WHO, 2006 ; IPCS INCHEM, 1999).

Chez les mères, une augmentation de la fréquence des avortements et des naissances prématurées fut observée à des doses  $\geq$  300 mg/kg pc/j. Des animaux morts ou moribonds ont été trouvés à 1 000 mg/kg pc/j. Plusieurs signes de toxicité incluant des selles molles, un amaigrissement et une diminution de l'activité spontanée, ont été observés à des doses  $\geq$  300 mg/kg pc/j. Le poids, le gain de poids et la consommation de nourriture ont été significativement diminués à 1 000 mg/kg pc/j. Bien que des malformations au niveau du squelette et des viscères aient été observées à 300 mg/kg pc/j, aucune d'entre elles ne fut observée dans les autres groupes. Il fut conclu que le pyriproxifène n'induisait pas d'effet lié au traitement au niveau de l'incidence des malformations du squelette et des viscères dans cette étude.

**La DSEIO pour la toxicité maternelle et la reproduction est de 100 mg/kg pc/j** sur la base des avortements, des naissances prématurées et des signes cliniques de toxicité, rapportés à 300 mg/kg pc/j.

**La DSEIO pour la toxicité du développement est de 1 000 mg/kg pc/j** (concentration testée la plus élevée).

## 9 ETUDES DE NEUROTOXICITE

---

Aucun signe de neurotoxicité sur le développement ne fut observé dans l'étude de segment 3 à la concentration testée la plus élevée (500 mg/kg pc/j), et dans l'étude de tératogénicité de Saegusa *et al.* (1988b) jusqu'à la dose de 1 000 mg/kg pc/j.

---

## 10 EFFET SUR LA SANTE HUMAINE

---

Comme le pyriproxifène est un nouvel insecticide, aucune étude sur l'homme n'a été menée. L'exposition professionnelle peut avoir lieu par contact cutané avec ce composé sur les lieux de travail où le pyriproxifène est produit ou utilisé.

---

## **11 SELECTION DE LA DSEIO ET DES FACTEURS DE SECURITE POUR L'EVALUATION DES RISQUES POUR LES OPERATEURS OU LES ACCOMPAGNANTS ET PERSONNES PRESENTES**

---

### **11.1 SELECTION DE LA DSEIO LA PLUS PERTINENTE**

---

Les opérateurs sont très vraisemblablement exposés plusieurs jours par semaine et durant plusieurs semaines, voire des mois dans les cas d'importantes recrudescences de maladies infectieuses à transmission vectorielle.

Dans les études de toxicité répétée par voie orale chez le rat, la souris ou le chien, les effets adverses les plus sensibles semblent être des modifications du métabolisme lipidique et des effets sur le foie. Le foie a été observé comme le principal organe cible, avec des augmentations de poids du foie et des modifications de concentrations plasmatiques en lipides, particulièrement en cholestérol, comme le montre le tableau suivant de présentation des résultats des principales études utiles pour dériver la DSEIO la plus pertinente pour l'évaluation des risques pour les opérateurs.

Tableau IV.2 : Résultats des études de toxicité utiles pour dériver le NEAO (Niveau d'exposition acceptable pour l'opérateur)

Voie	Durée	Espèces	DSEIO	DMEIO	Effet	Référence
orale	13 semaines	rat	23 mg/kg pc/j	120 mg/kg pc/j	Anémie légère. Augmentation des anomalies hépatiques, du poids relatif du foie, des concentrations en cholestérol total et en métabolisme lipidique	IPCS INCHEM (1999) ; WHO (2006)
orale	21 semaines	rat	24 mg/kg pc/j	120 mg/kg pc/j	Anémie légère. Augmentation du poids relatif du foie ainsi que des concentrations en cholestérol total et en lipides indiquant des effets sur le métabolisme lipidique.	IPCS INCHEM (1999)
orale	13 semaines	souris	150 mg/kg pc/j	840 mg/kg pc/j	Deux mâles sur 10 sont morts à 5000 ppm, diminution des paramètres relatifs aux érythrocytes et des poids corporel. Augmentation du poids relatif du foie et altérations	IPCS INCHEM (1999)
orale	13 semaines	chien	100 mg/kg pc/j	300 mg/kg pc/j	Augmentation du poids relatif et absolu du foie et augmentation du nombre d'hypertrophie hépatocellulaire.	IPCS INCHEM (1999) ; WHO (2006)
orale	1 an	chien	-	30 mg/kg pc/j	Augmentation du poids absolue du foie, ainsi que des concentrations en cholestérol total et en lipides, indiquant des effets sur le métabolisme des lipides.	IPCS INCHEM (1999) ; WHO (2006)
orale	1 an	chien	10 mg/kg pc/j	-	Absence d'effet relatif au traitement	IPCS INCHEM (1999) ; WHO (2006)
orale	18 mois	souris	♂ : 16 mg/kg pc/j	♂ : 81 mg/kg pc/j	Mort et amyloïdose hépatique. Infiltration lymphocytaire dans le foie, néphrose chronique	IPCS INCHEM (1999) ; WHO (2006)
orale	2 ans	rat	♂ : 27 mg/kg pc/j	♂ : 140 mg/kg pc/j	Poids et gain de poids réduits. Masse relative du foie accrue chez les femelles.	IPCS INCHEM (1999) ; WHO (2006)

\*DSEIO : Dose Sans Effet Indésirable Observé

\*\*DMEIO : Dose Minimale ayant un Effet Indésirable Observé

Les deux études les plus pertinentes sont celles menées chez le chien (Chapman *et al.*, 1991 ; Mitchell *et al.*, 1993 dans IPCS INCHEM, 1999 ; WHO, 2006) sur un an, puisque les effets adverses ont été observés aux doses les plus faibles et les animaux ont été exposés sur une durée d'un an, période supérieure à la période d'exposition supposée des opérateurs et donc représentative d'un scénario pire-cas. Dans l'étude de Chapman *et al.* (1991) (dans IPCS INCHEM, 1999 ; WHO, 2006), des augmentations du taux de cholestérol et des masses (relatives et absolues) du foie ont été rapportées pour une dose journalière de 30 mg/kg pc. La DMEIO (Dose Minimale ayant un Effet Indésirable Observé) a été établie à 30 mg/kg pc/j et en absence de toxicité liée au traitement rapportée dans l'étude de Mitchell

*et al.* (1993) (dans IPCS INCHEM 1999 ; WHO, 2006 ), la DSEIO a été établie à 10 mg/kg pc/j.

## 11.2 SELECTION DES FACTEURS DE SECURITE LES PLUS PERTINENTS

Tableau IV.3 : Facteurs de sécurité pour le calcul des marges de sécurité

Facteurs d'évaluation	valeurs
Inter-espèces	10 Pas d'étude disponible chez l'homme
Intra-espèces	5 (Les travailleurs sont considérés comme constituant une population plus homogène que le grand public. Bien qu'il n'y ait pas d'indication qu'une partie de la population soit plus sensible qu'une autre au pyriproxifène, un facteur de 10 peut être utilisé pour la personne présente)
Durée d'exposition	1
Extrapolation pour la voie d'exposition	1
Qualité des données	1 (seulement des résumés d'études disponibles mais issus d'études BPL scientifiquement évaluées)
refMOS	50

## 12 CONCLUSION GENERALE SUR LA TOXICITE DE LA SUBSTANCE ACTIVE

Le pyriproxifène possède une toxicité aiguë faible. Cette substance n'est ni irritante, ni sensibilisante pour la peau et est faiblement irritante pour les yeux. Cette substance n'est considérée ni mutagène, ni cancérigène. Dans les études de tératogénicité, des malformations au niveau du squelette et des viscères ont été observées parmi les descendants des mères exposées. Ces effets n'ayant été observés qu'à des doses entraînant une toxicité chez la mère, le pyriproxifène n'a pas été considéré comme tératogène ; le pyriproxifène n'est pas considéré comme toxique pour la reproduction.

Par administration répétée chez le rat, la souris ou le chien, le foie a été identifié comme le principal organe cible du pyriproxifène avec des augmentations de poids du foie et des modifications de concentrations plasmatiques en lipides, particulièrement en cholestérol. La valeur de la Dose Sans Effet Indésirable Observé la plus pertinente pour évaluer les risques pour les opérateurs ou les accompagnants et personnes présentes a été établie à 10 mg/kg pc/j (étude de 1 an sur chien par voie orale) et la marge de sécurité à 50.

## LISTE DES REFERENCES

**Partie I:** Liste des revues issues des organismes officiels et utilisées pour la constitution de ce document :

- EPA Pyriproxyfen; Pesticide Tolerance. October 21, 1999. Volume 64 Number 203: 56681-56689.
- EPA Pyriproxyfen; Pesticide Tolerances. May 14, 2003. Volume 68 Number 93: 25831-25837.
- EPA Pyriproxyfen; Pesticide Tolerances. September 23, 2005. Volume 70 Number 184: 55733-55740.
- HSDB (2003). Hazardous Substances Databank: Pyriproxyfen. National Library of Medicine, National Toxicology Program. Available at <http://www.toxnet.nlm.nih.gov/cgi-bin/sis/htmlgen?HSDB>.
- IPCS INCHEM (1999) Pesticide residues in food. Toxicological evaluations. Pyriproxyfen (first draft prepared by K. Fujimori, National institute of health Sciences, Tokyo, Japan).
- WHO specifications and evaluations for public health pesticides. July 2006 Pyriproxyfen.

**Partie II:** liste des références primaires des études citées dans ce document :

- Cardy, R., Moore, M., Murphy, B.S., Thakur, A., Tellone, C., Ito, S., Lang, P., Ginevan, M., Driver, J., Stewart, R. & Wilkinson, C. (1994) Supplemental data and review of oncogenicity study with S-31183 (Sumilarv) in mice (MRID No. 421783-10). Unpublished study from Technology Sciences Group Inc. Reference No. NNT-41-0116. Submitted to WHO by Sumitomo Chemical Co., Ltd.
- Chapman E.A., Lee P., Virgo D.M. and Sparrow S. (1991) S-31183: Toxicity study by oral (capsule) administration to beagle dogs for 52 weeks. Unpublished study reference No. NNT-11-0081. Submitted to WHO by Sumitomo Chemical Co., Ltd.
- Cox R.H., Zoetis T., Voelker R.W., Alsaker R.D., Kuhlman S.M., Lewis S.A., Thakur A.K. and Phipps N.G. (1990). Subchronic toxicity study in mice. Unpublished study from Hazleton laboratories America, Inc. Reference No. NNT-01-0066. Submitted to WHO by Sumitomo Chemical Co., Ltd.
- Hirohashi, A., Kannan, N., Kato, T. & Yamada, H. (1988) Study of S-31183 by oral administration during the period of fetal organogenesis in rabbits. Unpublished study reference No. NNT-80-0033. Submitted to WHO by Sumitomo Chemical Co., Ltd.
- Isobe N., Matsunaga H, Kimura K., Yoshitake A and Yamada H (1988). Metabolism of S31183 in rats. Unpublished study reference No. NNM-80-0001. Submitted to WHO by Sumitomo Chemical Co., Ltd.
- Koyama Y., Kimura J., Yoshioka K., Watanabe T., Seki T., Hosokawa S., Yamada H. and Hagiwara H. (1989). A six-month chronic dietary toxicity study of pyriproxyfen in rats. J. Toxicol. Sci., 14: 43-64.
- Matsunaga H., Yoshino H., Isobe N., Kaneko H., Nakatsuka I. and Yamada H. (1995). Metabolism of pyriproxyfen in rats. 1. Absorption, distribution, excretion and biotransformation studies with [phenoxyphenyl-<sup>14</sup>C]-pyriproxyfen J. Agric. Food Chem. 43, 235-240.

- Mitchell D.J., Virgo D.M., Broadmeadow A., Chase K.R., Lee P. And Sparrow S. (1993). S-31183: Toxicity study by oral (capsule) administration to beagle dogs for 52 weeks (additional investigation). Unpublished study from Life Science Research Ltd. reference No. NNT-31-0102. Submitted to WHO by Sumitomo Chemical Co., Ltd.
- Moore, M.R., Zoetis, T., Doyle, D., Cardy, R.H., Pearson, R.C., Walker, M.D., Lewis, S.A., Thomas, D.L., Thakur, A.K., Burlew, P.L., Hatcher, C.F. & Vegarra, M. (1993) 21-day dermal toxicity study in rats with S-31183. Unpublished study from Hazleton Washington, Inc. Reference No. NNT-31-0094. Submitted to WHO by Sumitomo Chemical Co., Ltd.
- Nakano M., Kohda A., Kato T. and Yamada H. (1988). Three-month oral toxicity study of S31183 in dogs. Unpublished study reference No. NNT-80-0037. Submitted to WHO by Sumitomo Chemical Co., Ltd.
- Osheroff, M.R., Ziegler, K.A., Cardy, R.H., Alsaker, R.D., Kuhlman, S.M., Lewis, S.A., Thakur, A.K., Burlew, P.L. & Nasca, A.J. (1991a) Oncogenicity study in mice with S31183. Unpublished study from Hazleton Laboratories America, Inc. Reference No. NNT-11-0084. Submitted to WHO by Sumitomo Chemical Co.
- Osheroff, M.R., Ziegler, K.A., Machotka, S., Alsaker, R.D., Kuhlman, S.M., Lewis, S.A., Thakur, A.K., Burlew, P.L., Devis, P.J. & Graham, R. (1991b) Combined chronic toxicity and oncogenicity study in rats with S-31183. Unpublished study from Hazleton Washington, Inc. Reference No. NNT-11-0085. Submitted to WHO by Sumitomo Chemical Co., Ltd.
- Robinson, K., Washer, G. & Noveroske, J. (1991) A dietary 2-generation (1 litter) reproduction study of S-31183 in the rat. Unpublished study from Bio-Research Laboratories Ltd. Reference No. NNT-11-0087. Submitted to WHO by Sumitomo Chemical Co., Ltd.
- Saegusa, T., Kitajima, S. & Narama, I. (1988a) Study on administration of a test substance prior to and in the early stages of pregnancy in rats. Unpublished study from Hamamatsu, Seigiken Research Co., Ltd. Reference No. NNT-80-0036. Submitted to WHO by Sumitomo Chemical Co., Ltd.
- Saegusa, T., Kitajima, S. & Narama, I. (1988b) Study on administration of S-31183 during the perinatal and lactation periods in rats. Unpublished study from Hamamatsu, Seigiken Research Co., Ltd. Reference No. NNT-80-0030. Submitted to WHO by Sumitomo Chemical Co., Ltd.
- Saegusa, T., Kitajima, S. & Narama, I. (1988c) Study by administration of S-31183 during the period of fetal organogenesis in rats. Unpublished study from Hamamatsu, Seigiken Research Co., Ltd. Reference No. NNT-80-0029. Submitted to WHO by Sumitomo Chemical Co., Ltd.
- Yoshino H. (1993). Metabolism study of (pyridyl-2,6-<sup>14</sup>C)pyriproxyfen in rat (pyridyl<sup>14</sup>C-labeled test compound, single oral administration at low- and high-doses). Unpublished study reference No. NNM-10-0025. Submitted to WHO by Sumitomo Chemical Co., Ltd.
- Yoshino H, Kaneko H, Nakatsuka I and Yamada H (1995). Metabolism of pyriproxyfen. 2. Comparison of in vivo metabolism between rats and mice. J. Agric. Food Chem. 43, 2681-2686.
- Yoshino H., Kaneko H, Nakatsuka I and Yamada H (1996). Metabolism of pyriproxyfen. 3. In vitro metabolism in rats and mice. J. Agric. Food Chem. 44, 1578-1581.
- Yoshino, H. (1993b) Metabolism study of (pyridyl-2,6-<sup>14</sup>C)pyriproxyfen in rat (pyridyl<sup>14</sup>C-labeled test compound, single oral administration at low- and high-doses). Unpublished study reference No. NNM-30-0025. Submitted to WHO by Sumitomo Chemical Co., Ltd.

## Annexe 1. DSEIO et LOAEL – Etudes chez l'animal sur le pyriproxifène

Voie	Durée	Espèce	DSEIO	DMEIO	Organe/Effet	Commentaires	Référence
<b>Toxicité aiguë</b>							
Cutanée	unique	rat (m)	-	> 2 000 mg/kg	DL <sub>50</sub>	-	WHO (2006)
Cutanée	unique	rat (f)	-	> 2 000 mg/kg	DL <sub>50</sub>	-	WHO (2006)
Cutanée	unique	souris (m)	-	> 2 000 mg/kg	DL <sub>50</sub>	-	IPCS INCHEM (1999)
Cutanée	unique	souris (f)	-	> 2 000 mg/kg	DL <sub>50</sub>	-	IPCS INCHEM (1999)
Orale	unique	rat (m)	-	> 5 000 mg/kg	DL <sub>50</sub>	Activité motrice réduite et diarrhée	IPCS INCHEM (1999)
Orale	unique	rat (f)	-	> 5 000 mg/kg	DL <sub>50</sub>	Activité motrice réduite et diarrhée	IPCS INCHEM (1999)
Orale	unique	souris (m)	-	> 5 000 mg/kg	DL <sub>50</sub>	Mort/ Activité motrice réduite et diarrhée /Ataxie/respiration anormale	IPCS INCHEM (1999)
Orale	unique	souris (f)	-	> 5 000 mg/kg	DL <sub>50</sub>	Mort/ Activité motrice réduite et diarrhée /Ataxie/respiration anormale	IPCS INCHEM (1999)
Orale	unique	chien (m)	-	> 5 000 mg/kg	DL <sub>50</sub>	Vomissement	IPCS INCHEM (1999)
Orale	unique	chien (f)	-	> 5 000 mg/kg	DL <sub>50</sub>	Vomissement	IPCS INCHEM (1999)
Inhalation	unique	rat (m)	-	> 1,3 mg/L	DL <sub>50</sub>	Salivation et incontinence urinaire	IPCS INCHEM (1999)
Inhalation	unique	rat (F)	-	> 1,3 mg/L	DL <sub>50</sub>	Salivation et incontinence urinaire	IPCS INCHEM (1999)
Inhalation	unique	souris (m)	-	> 1,3 mg/L	DL <sub>50</sub>	Respiration irrégulière	IPCS INCHEM (1999)
Inhalation	unique	souris (m)	-	> 1,3 mg/L	DL <sub>50</sub>	Respiration irrégulière	IPCS INCHEM (1999)

Voie	Durée	Espèces	DSEIO	DMEIO	Organe/Effet	Commentaires	Référence
<b>Toxicité Subchronique</b>							
Orale	90 jours	rat	400 ppm (23 mg/kg pc/j)	2 000 ppm (120 mg/kg pc/j)	Signes cliniques, érythrocytes, foie effet sur le métabolisme lipidique	Anémie légère, augmentation des anomalies hépatiques, du poids relatif du foie, des concentrations en cholestérol total et en lipides indiquant des effets sur le métabolisme lipidique.	IPCS INCHEM (1999)
Orale	21 semaines	rat	400 ppm (24 mg/kg pc/j)	2 000 ppm (120 mg/kg pc/j)	Signes cliniques, érythrocytes, foie effet sur le métabolisme lipidique	Anémie légère. Augmentation du poids relatif du foie ainsi que des concentrations en cholestérol total et en lipides indiquant des effets sur le métabolisme lipidique.	IPCS INCHEM (1999)
Cutanée	21 jours	rat	1 000 mg/kg pc/j	-	Signes cliniques, examen hématologique.	Absence d'effet relié au traitement	IPCS INCHEM (1999)
Inhalation	28 jours	rat	480 mg/m <sup>3</sup> /j	1 000 mg/m <sup>3</sup> /j	Signes cliniques, examen hématologique, foie	Salivation, gain de poids réduit et augmentation de l'activité déshydrogénases.	WHO (2006)
Orale	90 jours	souris	1 000 ppm (150 mg/kg pc/j)	5 000 ppm (840 mg/kg pc/j)	Décès, signes cliniques, érythrocytes, foie métabolisme lipidique	Deux mâles sur 10 sont morts à 5 000 ppm, diminution des paramètres relatifs aux érythrocytes et des poids corporel. Augmentation du poids relatif du foie et altérations histomorphologiques des reins.	IPCS INCHEM (1999)
Orale	90 jours	chien	100 mg/kg pc/j	300 mg/kg pc/j	Décès, signes cliniques, érythrocytes, foie métabolisme lipidique	Augmentation du poids relatif et absolu du foie et augmentation du nombre d'hypertrophie hépatocellulaire.	IPCS INCHEM (1999)
Orale	1 an	chien	-	30 mg/kg pc/j	Examen hématologique, effet sur le foie	Augmentation du poids absolue du foie, ainsi que des concentrations en cholestérol total et en lipides, indiquant des effets sur le métabolisme des lipides.	IPCS INCHEM (1999)
Orale	1 an	chien	10 mg/kg pc/j	-	Effet sur le foie	Absence d'effet relatif au traitement	IPCS INCHEM (1999)

Voie	Durée	Espèces	DSEIO	DMEIO	Organe/Effet	Commentaires	Référence
<b>Toxicité chronique</b>							
Orale	24 mois	rat	systémique : 600 ppm (♂ 27 mg/kg pc/j) (♀ 35 mg/kg pc/j)	3 000 ppm (♂ 140 mg/kg pc/j) (♀ 180 mg/kg pc/j)	Effets sur le foie, métabolisme lipidique examen histopathologique	Poids et gain de poids réduits. Masse relative du foie accrue chez les femelles.	IPCS INCHEM (1999)
Orale	18 mois	souris	systémique ♂ 16 mg/kg pc/j ♀ 110 mg/kg pc/j	♂ 81 mg/kg pc/j ♀ 530 mg/kg pc/j	Décès, effets sur le foie, examen histopathologique	Mort, incidence des amyloïdoses systémiques au niveau rénal (♀) et amyloïdose hépatique. Infiltration lymphocytaire dans le foie, néphrose chronique	IPCS INCHEM (1999)
<b>Tératogénicité / Toxicité pour la reproduction</b>							
Orale (régime)	2 générations	rat	systémique 68 mg/kg pc/j reproduction 340 mg/kg pc/j développement 98 mg/kg pc/j		Fertilité, gestation, reproduction, lactation, déficiences congénitales	Augmentation de la masse du foie à 5000 pm. L'exposition par le régime alimentaire est maintenue du sevrage jusqu'à l'âge de maturité sexuelle	IPCS INCHEM (1999)
Orale (gavage)	segment 3	rat	toxicité maternelle 100 mg/kg pc/j F1 reproductive 100 mg/kg pc/j développement 1 000 mg/kg pc/j		Nombre de portées, Taille des portées, viabilité, Déficiences congénitales, Signes de toxicité	Pas d'effet sur le développement. Avortement et naissance prématurées, et signes cliniques de toxicité observés à 300 mg/kg/jour. Gavage réalisé à partir du jour 17 de la gestation jusqu'à PND 20. Non tératogène.	IPCS INCHEM (1999)
Orale (gavage)	étude de développement	rat	toxicité maternelle non F1 reproduction 1 000 mg/kg pc/j développement 300 mg/kg pc/j	systémique 100 mg/kg pc/j	Nombre de portées, Taille des portées, viabilité, Déficiences congénitales, Signes de toxicité	Pas d'effet sur la reproduction, mais des augmentations de l'incidence des variations du squelette chez le fœtus et des anomalies des viscères chez la descendance ont été noté. Gavage réalisé durant les jours 7-17 de la gestation. Non tératogène.	IPCS INCHEM (1999)
Orale	Etude de développement	lapin	Toxicité maternelle 100 mg/kg/jour Reproduction 100 mg/kg/jour Développement 1 000 mg/kg/jour		Nombre de portées, Taille des portées, viabilité, Déficiences congénitales, Signes de toxicité	Avortement et naissance prématurées, et signes cliniques de toxicité observés à 300 mg/kg/jour.	IPCS INCHEM 1999

# **PYRIPROXYFÈNE**

## **V-Evaluation de l'exposition et du risque pour l'homme**

**DATE**

**Juillet 2007**

---

## TABLE DES MATIÈRES

<b>Introduction .....</b>	<b>406</b>
<b>1. Scenario 1 : application à la main .....</b>	<b>407</b>
1.1. evaluation selon le Scenario 1 .....	407
1.1.1. Modèle jardin 407	
1.1.2. Calcul basé sur la contamination des mains seulement 408	
1.2. Conclusion pour le scénario 1 .....	409
<b>2. Scenario 2 : Application avec un petit appareil manuel.....</b>	<b>410</b>
2.1. evaluation selon le Scenario 2 .....	410
2.2. Conclusion pour le scénario 2 .....	411
<b>3. Scenario 3 : Exposition de l'accompagnant et de la personne présente à proximité des zones traitées .....</b>	<b>412</b>
<b>4. Conclusion générale .....</b>	<b>412</b>
<b>ANNEXE I: Modèle jardin – Présentation de l'étude .....</b>	<b>413</b>

## INTRODUCTION

Dans cette section, l'évaluation des risques pour les opérateurs ou les accompagnants et personnes présentes à proximité des zones traitées liés à l'utilisation du pyriproxifène sous forme de granulés dans les conditions prédites d'utilisation à la Réunion pour lutter contre le vecteur du virus du Chikungunya est présentée.

La valeur de la Dose Sans Effet Indésirable Observé (DSEIO) la plus pertinente pour évaluer les risques pour les opérateurs ou les accompagnants et personnes présentes à proximité des zones traitées a été établie à 10 mg/kg pc/j (étude de 1 an sur chien par voie orale) et la marge de sécurité à 50.

Le pyriproxifène est appliqué pour contrôler les larves de moustiques. Il sera utilisé sous la forme de la formulation SUMILARV® 0,5 G à une dose comprise généralement entre 5 et 10 g/ha, mais pouvant aller jusqu'à 100 g/ha dans le cas d'une eau particulièrement infestée. Cette formulation contient 5 g de pyriproxifène par kg.

Le type d'équipement d'application qui peut être utilisé pour ces applications de granulés est limité : il s'agit de petits appareils portés qui dispersent les granulés de façon plus ou moins homogène. Ces équipements d'application sont peu utilisés pour appliquer les produits phytopharmaceutiques, à l'exception des engrais/désherbants sélectifs sur gazon. Les applications manuelles seront aussi envisagées.

Les modèles suivants seront utilisés :

### **Modèle expo jardin v3\_4 :**

Ce modèle a été réalisé par l'UPJ (Union des entreprises pour la Protection des Jardins et Espaces Verts) à partir de mesures d'exposition sur des opérateurs lors de l'application de formulations phytopharmaceutiques par des jardiniers amateurs. Ce modèle a été validé en novembre 2005 par la Commission d'étude de la toxicité des produits antiparasitaires à usage agricole et des produits assimilés. Il appartient à l'UPJ et à ses sociétaires. Un accès a été donné à l'AFSSET pour l'évaluation de ce dossier. Un des scénarios de ce modèle semble pertinent pour cette évaluation : application de granulés engrais/désherbant à la main sur pelouse. Un descriptif de l'étude sur laquelle est basée le modèle est joint en Annexe 1.

### **PHED V 1.1 février 1995 :**

Ce modèle a été construit par les agences réglementaires et l'industrie nord-américaines. Ce modèle comprend environ 1 800 répétitions pour des types d'usages très variés. Ce modèle est actuellement utilisé en Amérique du Nord et certains des usages modélisés peuvent être utilisés dans d'autres pays.

Il contient 60 mesures d'exposition pour des applications de granulés par petits appareils portés (scénario « Solid Broadcast Spreaders »), qui sont pertinents pour les applications de granulés par appareils portés. Ces données ont été reprises par le PSD de façon à évaluer l'exposition lors de l'application de granulés. Les paramètres d'entrée et les chiffres génériques sont détaillés à l'adresse suivante pour les applications avec tracteur :

[http://www.pesticides.gov.uk/applicant\\_guide.asp?id=1246#section95](http://www.pesticides.gov.uk/applicant_guide.asp?id=1246#section95).

Pour les applications manuelles, la feuille de calcul n'est plus accessible sur Internet. Cependant l'intégralité de la feuille de calcul est reprise au point 2.1, Tableau V.2.

## 1 SCENARIO 1 : APPLICATION A LA MAIN

### 1.1 EVALUATION SELON LE SCENARIO 1

#### 1.1.1 Modèle jardin

Des mesures d'exposition conduites selon les Bonnes Pratiques de Laboratoire ont été effectuées en 2003 lors de l'application manuelle d'une formulation engrais/désherbant sélectif sur gazon par des jardiniers amateurs. Ces opérateurs ont appliqué des granulés à la volée sur une surface moyenne de 370 m<sup>2</sup> (min. 120 et max. 675 m<sup>2</sup>). Ces données ont été intégrées dans le « Modèle expo jardin v3\_4 ».

Une évaluation de l'exposition peut être conduite avec ce modèle même si le scénario et les paramètres sont différents. En effet, dans l'étude en jardin, la durée moyenne de l'application de granulés était de 28 minutes ; il s'agissait de jardiniers amateurs.

Cependant, l'épandage de granulés se faisait en plein sur le gazon, alors que pour le pyriproxifène, l'application impliquera davantage de déplacements entre les différents sites à traiter et donc une quantité de granulés appliqués moindre pour une durée donnée compte tenu du temps de déplacement entre les zones à traiter. Le niveau d'exposition obtenu devrait au final être assez réaliste. Par ailleurs, il est logique de considérer que rapidement, la quantité de substance ajoutée par nouveau contact avec le produit s'équilibre avec la quantité retirée par le même mécanisme (en particulier au niveau de la main et des gants). Ceci est confirmé par l'absence totale de corrélation entre la contamination de chaque individu avec la quantité manipulée, la surface traitée et le temps de traitement. L'unité utilisée dans ce modèle est donc l'exposition par tâche.

Tableau V.1 : Evaluation selon le Modèle expo jardin v3\_4 (détails en Annexe I)

<p><b>Données toxicologiques</b></p> <p>Nom s.a. : pyriproxifène</p> <p>NOAEL : 10 mg/kg pc/j</p> <p><b>Pénétration cutanée</b></p> <p>Formulation concentrée : 69%</p>	<p><b>Formulation</b></p> <p>Type: Granulé prêt à l'emploi</p> <p>Concentration s.a. dans la formulation : 5 g/kg</p> <p><b>Données d'application</b></p> <p>Equipement utilisé : Epandage manuel (granulés)</p>
---	--

Evaluation du risque (90 <sup>ème</sup> pourcentile)	SANS GANTS				MOS
	Exposition (mg formulation/j)	Exposition (µg s.a./j)	Dose absorbée (µg s.a./j)	Dose absorbée (µg s.a./kg pc/j)*	
Exposition par inhalation :	0,141	0,704 6	0,704 6	0,011 74	241
Exposition cutanée :	722	3 610,3	2 491,1	41,52	
Exposition totale (inhalation + cutanée) :	722,1	3 612	2 492	41,53	

\* pour une personne de 60 kg

Evaluation du risque (90 <sup>e</sup> pourcentile)	AVEC GANTS				MOS
	Exposition (mg formulation/j)	Exposition (µg s.a./j)	Dose absorbée (µg s.a./j)	Dose absorbée (µg s.a./kg pc/j)*	
Exposition par inhalation :	0,141	0,704 6	0,704 6	0,011 74	
Exposition cutanée :	157	785,0	541,7	9,028	
Exposition totale (inhalation + cutanée) :	157,1	785,7	542,4	9,039 7	<b>1106</b>

\* pour une personne de 60 kg

### 1.1.2 Calcul basé sur la contamination des mains seulement

Une évaluation de l'exposition peut aussi être conduite pour une application manuelle, en considérant les hypothèses suivantes :

- La **surface d'une main** d'une personne adulte est au plus égale à **500 cm<sup>2</sup>** <sup>(24)</sup>. On considèrera comme un pire cas la surface entière de la main (dessus y compris) avec l'opérateur plongeant sa main dans un récipient (ou un sac) contenant les granulés. Une seule main est prise en compte parce que l'autre maintient l'emballage (ou le récipient intermédiaire) contenant la formulation.
- Le **temps de contact** entre les granulés et la main est court, parce que les granulés tombent rapidement (au moins vis-à-vis du dessus de la main). La durée d'exposition ne peut donc pas être utilisée dans l'évaluation de l'exposition.
- L'exposition par **inhalation est négligeable**. Les granulés sont en effet essentiellement non pulvérulents (CIPAC MT 171, Handbook F, p. 425, 1995, Note 2) et la résistance à l'attrition élevée (> 98 % ; CIPAC MT 178, Handbook H, p. 304, 1998).
- En l'absence de données sur la **quantité de poudre qui reste sur la main** après épandage des granulés, il est possible d'utiliser des données d'adhérence de terre sur les mains <sup>(25)</sup>. Ces essais indiquent une adhérence de 0,006 3 à 50,0 mg/cm<sup>2</sup>. Dans cette évaluation, la plus forte valeur sera retenue comme pire cas, soit **50 mg/cm<sup>2</sup>**.

<sup>24</sup> USEPA 1996, Adult Exposure Factors Recommended by NAFTA (USEPA, Health Canada, and California DPR) ; la surface des 2 mains représente 904 cm<sup>2</sup> en moyenne pour hommes et femmes combinées (990 cm<sup>2</sup> pour hommes seulement).

<sup>25</sup> Kissel *et al.* (1996) cité dans USEPA (1997) et dans "Exposure Factors Sourcebook for European Populations, with Focus on UK Data", NICOLE Exposure Factors Project: Sponsored by ExxonMobil, ICI, and Shell, May 2000.

Certaines de ces hypothèses sont volontairement maximalistes de façon à couvrir des usages extrêmes.

Quelle que soit la durée de l'application et la quantité de granulés manipulés au cours d'une journée, il est probable que la quantité de poudre qui reste sur les doigts soit sans doute très inférieure à 50 mg/cm<sup>2</sup>, parce que la terre « colle » davantage que des granulés (qui ne sont pas pulvérulents). Néanmoins cette valeur va servir de support à l'évaluation du risque.

La quantité de poudre de granulé qui reste sur la main après application est donc au plus égale à 25 g (50 mg/cm<sup>2</sup> x 500 cm<sup>2</sup>), soit 125 mg de pyriproxifène.

La quantité absorbée est égale à 86,25 mg/jour (125 x 0,69). Pour une personne de 60 kg, cela représente 1,44 mg/kg pc/j.

Si l'applicateur porte des gants de protection pour épandre les granulés, l'exposition est réduite de 90 %. **La quantité absorbée est donc égale à 0,144 mg/kg pc/j.**

**La marge de sécurité est égale à 69 (10 / 0,144).**

---

## 1.2 CONCLUSION POUR LE SCENARIO 1

---

Selon le Modèle expo jardin v3\_4 (point 1.1.1), le risque est acceptable pour un opérateur qui applique les granulés SUMILARV® 0,5 G à la main. La marge de sécurité obtenue lors d'une application sans gants est de 241.

Il est cependant recommandé de porter des gants pendant ce scénario. La MOS est alors égale à 1 106.

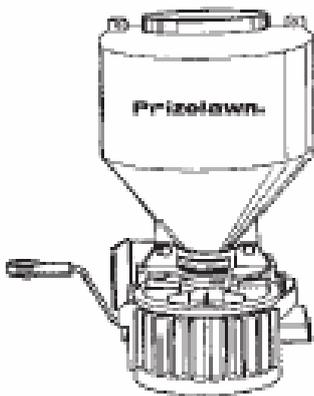
Par ailleurs, selon les résultats de l'évaluation conduite sur la base d'hypothèses très conservatrices et de la quantité de poudre qui peut adhérer sur la main (point 1.1.2), le risque est acceptable pour un opérateur qui applique à la main des granulés à base de pyriproxifène. Des gants de protection (équipés de manchettes assez longues) sont recommandés. De plus, l'opérateur devra prendre garde à ne pas plonger la main trop profondément dans l'emballage (ou le récipient intermédiaire) contenant les granulés, de façon à éviter que les granulés passent au-dessus de la manchette du gants et se fauillent ainsi jusqu'à la peau.

## 2 SCENARIO 2 : APPLICATION AVEC UN PETIT APPAREIL MANUEL

### 2.1 EVALUATION SELON LE SCENARIO 2

Les appareils utilisés pour épandre des granulés sont de type « belly grinder » ou « Scotts-type ». Ces appareils sont habituellement utilisés pour appliquer des engrais/désherbants sélectifs dans les jardins et espaces verts. Les granulés sont introduits dans un petit réservoir à base conique. Un couvercle est prévu pour fermer le réservoir après remplissage. En tournant une manivelle latérale à l'appareil (bien visible sur la photo de gauche), les granulés sont épandus à la verticale de l'appareil dans les conditions normales de fonctionnement.

Belly grinder



Scotts-type



Ce scénario est décrit pour couvrir toutes les possibilités de méthodes d'application de produit granulé contenant du pyriproxyfène dans le cadre de la lutte antivectorielle. Néanmoins en raison de la nature des zones à traiter pour les larvicides, à savoir des plans d'eau, il est probable que la solution manuelle soit le plus souvent privilégiée sur le terrain.

Dans le modèle PSD PHED, 60 données d'application avec ces appareils issues de 4 études distinctes sont sélectionnées sous la dénomination « équipement manuel ». L'exposition survenant pendant le chargement du réservoir et l'application a été mesurée conjointement. Ces données ont été générées lors d'applications en plein alors que l'application de SUMILARV® 0,5 G est ponctuelle : les déplacements d'un point de traitement à l'autre font que le temps de traitement et la quantité de granulés sont réduits. Une surface de 5 000 m<sup>2</sup> est donc probablement un maximum.

#### Paramètres d'application considérés :

Taux d'application maximum : 100 g s.a./ha

Capacité de la cuve : 9 kg

Surface traitée par jour : 5 000 m<sup>2</sup>

Quantité de s.a. manipulée par jour : 0,05 kg

Quantité de produit contenant la s.a. manipulée par jour : 10 kg de granulés

L'évaluation du risque est donc conduite ci-dessous selon le modèle PHED. Les données de PHED incluent le port de gants et d'une combinaison de travail pendant le chargement et l'application des granulés.

Tableau V.2 : Calcul de MOS par le modèle PHED

<b>EXPOSITION A UNE FORMULATION GRANULE: MANUEL</b>		
<b>VARIABLES</b>		
Surface quotidienne	0,5 ha/j	Protection respiratoire
Dose d'application	0,1 kg s.a./ha	Chargement/
Absorption cutanée	69 %	Application : Non
Absorption par inhalation	100 %	
NOAEL	10 mg/kg pc/j	

	<b>75<sup>e</sup> PERCENTILES</b>	
<b>CHARGEMENT / APPLICATION</b>		
<b>Exposition cutanée</b>		
Données PHED – mains réel	28,532 01 mg/kg s.a.	
Données PHED – corps réel	65,320 27 mg/kg s.a.	
kg s.a. chargés/appliqués	0,05 kg s.a./j	
Exposition cutanée	4,692 6 mg s.a./j	
Dose absorbée	3,237 903 66 69%	
<b>Exposition par inhalation</b>		
Données PHED	0,467 733 mg/kg s.a.	
kg s.a. chargés	0,05 kg s.a./j	
Exposition par inhalation	0,023 386 65 mg s.a./j	
Dose absorbée	0,023 386 65 100%	
<b>EXPO TOTALE SYSTEMIQUE</b>	0,054 354 84 mg/kg pc/j	
<b>MOS</b>	<b>184</b>	

## 2.2 CONCLUSION POUR LE SCÉNARIO 2

Compte tenu des différences entre le scénario 2 et les conditions de mesure du modèle PHED, le risque est sans doute surévalué.

L'évaluation de l'exposition montre que le risque est acceptable selon PSD PHED (75<sup>ème</sup> percentiles). La marge de sécurité est égale à 184.

### 3 SCENARIO 3 : EXPOSITION DE L'ACCOMPAGNANT ET DE LA PERSONNE PRESENTE A PROXIMITE DES ZONES TRAITEES

Le risque d'exposition de la personne présente à proximité des zones traitées est négligeable si les précautions d'utilisation recommandées sont respectées.

En effet, le risque d'exposition par inhalation est nul parce que les granulés ne sont pas pulvérulents et que la résistance à l'attrition est élevée<sup>26</sup>. De plus, comme les granulés sont appliqués sur des zones aquatiques, il n'est pas possible que des poussières soient remises en suspension dans l'air après application.

Par voie cutanée, le risque est négligeable ; le phénomène de dérive aérienne des granulés est très faible et ils tombent rapidement sur l'eau.

### 4 CONCLUSION GENERALE

Tableau V.3 : MOS selon le scénario et le modèle utilisé

Scénario	Modèle expo jardin	PHED
1 – Application manuelle	241 (90 <sup>ème</sup> pourcentile)	-
2 – Application avec un petit équipement d'épandage	-	184 (75 <sup>ème</sup> pourcentile)

-: pas de modèle

La dose d'application considérée pour ces évaluations était de 100 g de pyriproxifène par hectare alors que la dose usuelle est plutôt comprise entre 5 et 10 g/ha.

Les conclusions suivantes peuvent être tirées en considérant qu'une marge de sécurité (MOS) supérieure à 50 est considérée comme étant acceptable:

**Le risque est acceptable pour les épandages manuels ou à l'aide de petits appareils portés par les opérateurs. Le port de gants de protection est recommandé pour les deux scénarios.**

**Le risque est aussi acceptable pour l'accompagnant et la personne présente à proximité des zones traitées pendant la phase d'application.**

<sup>26</sup> Pyriproxifène granules, WHO specification 715/GR (July 2006); WHO specifications and evaluations for public health pesticides:

« Dustiness » (CIPAC MT 171, Handbook F, p. 425, 1995, Note 2): essentiellement non pulvérulent

« Attrition resistance » (CIPAC MT 178 Handbook H, p. 304, 1998): minimum: 98% de résistance à l'attrition

**ANNEXE I: MODELE JARDIN – PRESENTATION DE L'ETUDE**

**Evaluation du risque opérateur en jardins amateurs:  
Etude exposition jardin  
--  
Présentation de l'étude**

L'Union des entreprises pour la Protection des Jardins et Espaces verts (UPJ) a financé une étude de mesure d'exposition d'opérateurs utilisant du matériel d'application pour jardins amateurs.

Cette étude a été conduite selon les Bonnes Pratiques de Laboratoire dans le Sud-est de la France pendant l'automne 2003 pour mesurer l'exposition cutanée et par inhalation de jardiniers amateurs pendant différentes tâches de préparation et d'application identifiées comme étant les plus représentatives des activités de traitement en jardin.

Les jardins ont été sélectionnés de façon à ce que les surfaces à traiter soient aussi proches que possible des paramètres définis par la Commission d'Etude de la Toxicité établis sur la base de l'Enquête Jardin ("Jardins en chiffres", UPJ 2004 ; disponible auprès de l'UPJ) et des données d'une enquête INSEE (étude logement 1996/97) et du matériel d'application utilisé par les jardiniers amateurs. Le protocole mis en place a été élaboré en collaboration avec la Commission d'Etude de la Toxicité, commission d'évaluation des risques œuvrant pour la ministère de l'agriculture.

Les tâches étudiées pendant cette étude ont été les suivantes:

- Préparation d'une bouillie à partir d'une:
  - o formulation liquide (EW);
  - o formulation poudre (WP);
- Application de:
  - o liquide prêt à l'emploi (AL) avec pulvérisateur à gâchette (750 mL);
  - o bouillie avec pulvérisateur à pression préalable (5 L) sur:
    - massif et cultures légumières (application basse inférieure à 60 cm)
    - zone non cultivée perméable (application basse inférieure à 60 cm)
    - haie ou arbres plein vent (application haute supérieure à 60 cm)
  - o granulés à la main sur gazon.

Quatre types de formulations ont été utilisés:

- un liquide prêt à l'emploi (AL);
- une émulsion de type aqueux (EW);
- une poudre mouillable (WP);
- un micro granulé (GR).

Un modèle d'évaluation de l'exposition des jardiniers amateurs lors de l'emploi de formulations a été construit sur la base des résultats de cette étude jardin. Une normalisation des valeurs d'exposition en µL de formulation (ou de bouillie) par tâche a été employée dans tous les cas d'utilisation de liquide. Dans le cas des solides (poudre mouillable ou granulés), la normalisation utilisée est en mg formulation/tâche.

Feuille de saisie des données du modèle (sous excel) - exemple:

Données toxicologiques			Formulation						
Item substance active:	XXX		Type:	WP/SP					
AOEL (Acceptable Operator Exposure Level ou Dose tolérée):	0,020	mg/kg per/par	Concentration a. dans la formulation:	30	g/kg				
	1,2	mg/par	Dose homologuée:	750	g/10m <sup>2</sup>				
			Volume de bouillie (minimum) appliqué par surface:	10	L/m <sup>2</sup>				
			Concentration a. dans la bouillie:	0,225	g/litre				
Formulation cuivré			Données de préparation et d'application						
Formulation concentrée (liquide ou solide):	1,00%		Équipement utilisé:	pulvérisateur à pression réglable					
Formulation diluée (bouillie ou AL):	10,00%		Type culture:	Herbes et autres cultures hautes (5-80 cm)					
Evaluation risque (selon les recommandations de la Commission d'Etude de la Toxicité)	Scénario 1: SANS GANTS			Scénario 2: AVEC GANTS (pendant la préparation)			Scénario 3: AVEC GANTS (pendant la préparation et l'application)		
	Exposition (µg)	Dose absorbée (µg)	% AOEL	Exposition (µg)	Dose absorbée (µg)	% AOEL	Exposition (µg)	Dose absorbée (µg)	% AOEL
Exposition par inhalation:	1,40	1,40		1,450	1,450		1,40	1,40	
Exposition cutanée:	919,7	40,19		428,97	41,20		Pas de gants considérés pendant l'application haute	Pas de gants considérés pendant l'application haute	
Exposition totale (inhalation + cutanée):	921	40	3,99%	428,94	42,94	3,99%	Pas de gants considérés pendant l'application haute	Pas de gants considérés pendant l'application haute	

Ce modèle est utilisable pour les types de formulations suivantes : WP, SP, WG, SG, sachet hydrosoluble, liquide (y compris liquide prêt à l'emploi) et granulés prêt à l'emploi.

Trois scénarios d'exposition ont été retenus en fonction du port des gants pour évaluer l'exposition et le risque pour l'opérateur:

**Scénario N°1** : Absence de port de gants pendant la préparation et l'application.

**Scénario N°2** : Port de gants pendant la préparation  
[dans le cas d'une formulation prête à l'emploi (liquide ou granulés) ou d'une formulation conditionnée en sachet hydrosoluble, ce scénario n'existe pas]

**Scénario N°3** : Port de gants pendant la préparation et l'application  
[dans le cas des applications basses sur massif ou sur zone non cultivée, il n'y a pas de données pour ce scénario puisque aucun opérateur ne portait de gants lors de ces applications ; dans le cas des applications hautes, ce scénario n'est pas considéré non plus]

<b>Contact :</b> UPJ Tel : 01.53.69.60.90 Fax : 01.53.69.60.95 59 avenue de Saxe - 75007 PARIS	Stéphanie MARTHON-GASQUET Jacques MY	<a href="mailto:smgasquet@wanadoo.fr">smgasquet@wanadoo.fr</a> <a href="mailto:jacquesmy@wanadoo.fr">jacquesmy@wanadoo.fr</a>
--	---	--



### **3.5. Spinosad : évaluation des risques pour l'homme et l'environnement (juillet 2007)**





CEHTRA  
43 rue Laroque  
33560 Sainte Eulalie  
France

Tel (33) 5 57 77 56 10  
Fax (33) 5 57 77 56 20  
[www.cehtra.fr](http://www.cehtra.fr)

# **SPINOSAD**

## **I-Introduction des évaluations de risques pour l'homme et l'environnement**

**DATE**

**Juillet 2007**

En l'absence de vaccins et de médicaments pour lutter contre la maladie, les mesures visant à réduire les densités de moustiques restent des mesures très efficaces pour limiter la transmission du virus du Chikungunya. L'utilisation de produits larvicides est une des mesures employées à la Réunion. Ce document présente l'évaluation des risques pour l'homme et pour l'environnement liés à l'utilisation du spinosad pour limiter la transmission du virus du Chikungunya. Le spinosad est une substance larvicide susceptible d'être utilisée dans le cadre de futures campagnes de lutte antivectorielle à la Réunion.

Afin de réduire significativement la propagation du virus dans la population, et en l'absence de prophylaxie médicamenteuse spécifique du Chikungunya, il est primordial d'agir contre les pullulations locales du vecteur, le moustique *Aedes albopictus*. Du fait de l'efficacité limitée des insecticides tant dans le temps que dans l'espace, la lutte doit cibler la réduction des gîtes de ce moustique vecteur. Un gîte est un lieu de ponte qui assure le bon développement des larves jusqu'à l'émergence de l'adulte. Ces gîtes sont obligatoirement constitués d'eau stagnante.

Les utilisations de larvicides pour lutter contre le vecteur du Chikungunya à la Réunion s'effectuent essentiellement en milieu naturel et se restreignent aux ravines et parcs présents en milieux urbains (DRASS Réunion, 2006a). L'utilisation de larvicides n'est recommandée qu'en cas d'absence de pluie, voire en cas de pluie très légère. Le traitement mécanique des gîtes, qui est le mode de démoustication à toujours privilégier surtout après un grand épisode de pluie, peut être effectué par tout temps. Il en est de même pour les opérations de nettoyage de fond de cours. De manière générale, les flaques d'eau résiduelles sur sol imperméable et sur gazon plat ne doivent pas être traitées par produit biologique (DRASS Réunion, 2006b).

Les évaluations réalisées prennent en compte l'utilisation du spinosad pour traiter les principaux gîtes productifs rencontrés à l'intérieur ou aux alentours des villes de la Réunion, à savoir les ravines, les étangs, les mares, les bassins et les points d'eau stagnante de taille respectable présents dans les champs de canne ; les flaques d'eau résiduelles sur sol imperméable ne pouvant être traitées.

Le spinosad est un bio-insecticide, qui agit par excitation rapide du système nerveux central des insectes.

Le spinosad est le nom ISO approuvé pour un mélange de composés formés à partir d'un produit de fermentation d'un organisme du sol, le *Saccharopolyspora spinosa*. Le mélange comprend approximativement 10 composés chimiques semblables, contenant des composés carbohydratés et des sels inorganiques dérivés du processus de fermentation. Deux composés très proches, la spinosyne A et la spinosyne D, sont majoritairement représentés dans la composition du spinosad et sont responsables de la majorité de son activité insecticide. La spinosyne A et la spinosyne D diffèrent seulement dans la substitution d'un atome d'hydrogène par un groupement méthyle à une position qui n'est pas métaboliquement labile (Figure I.1). Le reste du spinosad est constitué de plusieurs composés spinosynes, qui diffèrent dans la position des substitutions mineures sur des sites différents de la molécule.

La grande majorité des informations utilisées pour dériver les profils toxicologiques et écotoxicologiques du spinosad a été obtenue à partir d'essais conduits avec un produit technique contenant les spinosynes A et D, à 771 g/kg et à 122 g/kg, respectivement. Cette composition étant considérée comme typique pour le spinosad, les évaluations ont été effectuées à partir de ce spinosad représentatif du matériel délivré dans l'environnement, plutôt que de manière individuelle pour chaque composant de la substance active.

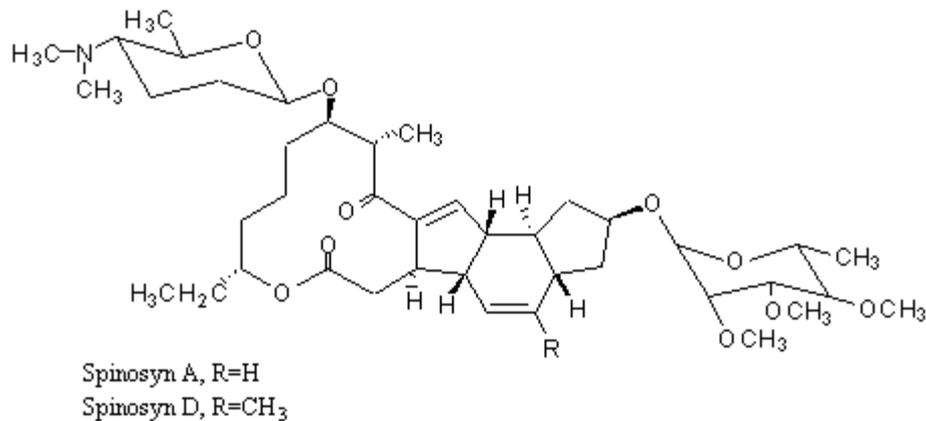


Figure I.1. Structure des spinosynes A et D

Cette évaluation simplifiée des risques pour l'homme et l'environnement liés à l'utilisation du spinosad dans le cadre de la lutte contre le vecteur du Chikungunya à la Réunion consiste à évaluer les doses de substance active entraînant des effets toxiques pour l'homme et pour les différents compartiments environnementaux pertinents et de les comparer aux doses d'exposition de l'homme et de l'environnement pendant les phases d'application. Ces doses d'exposition seront estimées à partir des conditions d'utilisation prédites de produits contenant du spinosad à la Réunion pour limiter la transmission du virus du Chikungunya.

Dans le cadre de la lutte contre les moustiques, vecteurs d'arbovirose, des essais d'efficacité vont être conduits en partenariat avec l'AFSSET pour évaluer l'efficacité du spinosad, au cours desquels la formulation suivante sera utilisée :

Nom commercial	Substance active	Type de formulation	Dose recommandée
SUCCESS® 4	480 g/L	Suspension concentrée (SC)	12 à 35 g s.a./ha

La dose recommandée est de 12 à 35 g de substance active/ha. Le spinosad est utilisé comme suspension « concentrée » de 120 à 480 g de substance active/L.

La durée d'efficacité est de 1 semaine. Deux applications sont recommandées pour obtenir une efficacité maximale. Les campagnes de lutte contre le Chikungunya à la Réunion sont susceptibles d'être menées tout au long de l'année. En effet, dans cette région, les conditions climatiques sont telles qu'il n'existe pas de période de non reproduction des moustiques prévisible dans l'année. On estime à deux le nombre d'application maximal du produit sur un même site, en raison de l'efficacité supposée du produit, du contrôle et de la maîtrise des campagnes de traitement et de la possible utilisation d'autres solutions de traitement (autres substances actives de type larvicide ou utilisation de substances actives de type adulticide) sur un même site (WHO, IRD, 2006).

L'évaluation suivante a été réalisée en considérant les doses et concentration maximales de 35 g s.a./ha et de 480 g/L, respectivement car susceptibles d'entraîner l'exposition de l'homme et de l'environnement la plus importante. Les scénarios prennent en compte un intervalle minimal de 1 semaine entre les 2 applications, en raison de la durée d'efficacité du produit.

L'équipement d'application utilisé pour ces applications est similaire à celui utilisé pour des applications de produits phytopharmaceutiques; il peut être :

- un pulvérisateur manuel à pression préalable,
- un pulvérisateur à jets portés monté sur un véhicule,
- un pulvérisateur à jets projetés (lance) monté sur un véhicule.

Cette évaluation des risques est une évaluation simplifiée des risques. Les sources de documentation sont des synthèses de documents de revue préalablement rédigés par des organismes officiels. Les rapports d'étude primaires n'ont pas été revus par les rédacteurs de ce document.

## LISTE DES REFERENCES

- DRASS Réunion, Note technique de la Direction Régionale des affaires sanitaires et sociales de la Préfecture de la Réunion sur la « stratégie et moyens de lutte pour le traitement des gîtes productifs » 2006a.
- DRASS Réunion, « Note relative aux traitements de lutte antivectorielle en fonction des conditions météorologiques. » de la Direction Régionale des affaires sanitaires et sociales de la Préfecture de la Réunion, 19 février 2006b.
- WHO, IRD: Communication personnelle avec des représentants en charge de la lutte antivectorielle de ces deux organismes (Organisation Mondiale de la Santé et Institut de Recherche pour le Développement), Novembre 2006.



CEHTRA  
43 rue Laroque  
33560 Sainte Eulalie  
France

Tel (33) 5 57 77 56 10  
Fax (33) 5 57 77 56 20  
[www.cehtra.fr](http://www.cehtra.fr)

# **SPINOSAD**

## **II-Propriétés physico-chimiques**

### **Evaluation du risque pour l'environnement**

**Calculs des concentrations  
prévisibles dans l'environnement lors de  
l'utilisation de SUCCESS® 4  
à l'Île de la Réunion**

**DATE**

**Juillet 2007**

## TABLE DES MATIERES

<b>1. Introduction.....</b>	<b>426</b>
<b>2. substance Active .....</b>	<b>426</b>
2.1. Nom commun.....	426
2.2. Dénomination chimique.....	426
2.3. N° CEE et/ou n° CAS .....	427
2.4. Formule moléculaire et formule structurale développée; masse molaire .....	427
2.5. Origine et mode d'action biologique .....	427
<b>3. Propriétés physiques et chimiques de la FORMULATION étudiée....</b>	<b>428</b>
<b>4. Propriétés physiques et chimiques de la substance active.....</b>	<b>428</b>
4.1. Point de fusion, point d'ébullition, densité relative .....	428
4.2. Pression de vapeur (en Pa) .....	429
4.3. Aspect (état physique, couleur).....	429
4.4. Spectres d'absorption (UV/VIS, IR, RMN), et spectrométrie de masse, extinction moléculaire aux longueurs d'onde adéquates, le cas échéant.....	429
4.5. Solubilité dans l'eau, notamment influence du pH (5 à 9) et de la température sur la solubilité, le cas échéant .....	430
4.6. Coefficient de partage n-octanol/eau, y compris influence du pH (5 à 9) et de la température.....	430
4.7. Stabilité thermique, identité des produits de dégradation correspondants .....	431
4.8. Inflammabilité, y compris auto-inflammabilité et identité des produits de combustion .....	431
4.9. Point d'éclair .....	431
4.10. Tension superficielle.....	431
4.11. Propriétés explosives .....	431
4.12. Propriétés oxydantes .....	431
4.13. Réactivité à l'égard des matériaux du récipient .....	431
<b>5. Devenir et comportement dans l'environnement.....</b>	<b>432</b>
<b>5.1. Dégradation.....</b>	<b>432</b>
5.1.1. Biotique 432	
5.1.1.1. Dégradation dans le sol en conditions aérobies	432
5.1.1.2. Dégradation dans le sol en conditions anaérobies	433
5.1.1.3. Phototransformation dans le sol	433
5.1.2. Abiotique 433	
5.1.2.1. Hydrolyse en fonction du pH et identification du ou des produits de la dégradation	433
5.1.2.2. Phototransformation dans l'eau, y compris l'identité des produits de la transformation	433
5.1.2.3. Métabolisme aquatique en conditions aérobies	434
5.1.2.4. Métabolisme aquatique en conditions anaérobies	434
5.1.2.5. Biodégradabilité facile	435
5.1.2.6. Biodégradabilité intrinsèque, le cas échéant	435

---

<b>5.2. Etudes d'adsorption/désorption .....</b>	<b>435</b>
5.2.1. adsorption/désorption	435
5.2.2. Autres études	436
<b>5.3. Devenir et comportement dans l'air .....</b>	<b>436</b>
5.3.1. Vitesse de dégradation dans l'air	436
5.3.2. Volatilisation	436
<b>6. Evaluation du risque pour l'environnement .....</b>	<b>438</b>
<b>6.1. Voie et vitesse de dégradation dans l'air .....</b>	<b>438</b>
<b>6.2. Voie et vitesse de dégradation dans l'eau .....</b>	<b>439</b>
6.2.1. Devenir dans les eaux de surface	439
6.2.2. Devenir dans les eaux souterraines	441
<b>6.3. Voie et vitesse de dégradation dans les sédiments.....</b>	<b>446</b>
6.3.1. Paramètres considérés	447
6.3.2. Résultats	448
<b>6.4. Voie et vitesse de dégradation dans le sol .....</b>	<b>448</b>
6.4.1. Méthode de calcul de $CPE_{local}$ sol	448
6.4.2. Paramètres considérés	449
6.4.3. Résultats	450
<b>6.5. Devenir en milieu marin et estuarien.....</b>	<b>454</b>
<b>7. Conclusion.....</b>	<b>456</b>

## 1 INTRODUCTION

Ce document présente les propriétés physico-chimiques disponibles de la préparation SUCCESS® 4 à base de spinosad susceptible d'être utilisée à l'Île de la Réunion dans le cadre de la lutte antivectorielle (LAV) contre le Chikungunya (traitements larvicides, voir section 1 - Introduction des évaluations de risques pour l'homme et l'environnement) ainsi qu'une évaluation des risques pour l'environnement : risque d'accumulation des substances et produits testés, et risque pour le consommateur par l'intermédiaire d'eau potable potentiellement contaminée.

Cette évaluation est basée sur des données issues de plusieurs sources documentaires. On a considéré en priorité les résultats d'évaluations conduites par des experts d'organismes réglementaires (AFSSA, OMS, Agence de réglementation de la lutte antiparasitaire canadienne (ARLA)...). Les données de l'AFSSA (base de données Agritox, dont la source de l'information est de l'Union européenne) sont principalement utilisées considérant qu'elles ont été soumises par le producteur de la substance active dans le cadre de la directive 91/414/CEE. Cependant, les études ayant servi à ces évaluations n'ont pas été consultées. Elles pourront l'être en cas d'ambiguïté dans le cadre d'une évaluation affinée des risques.

## 2 SUBSTANCE ACTIVE

### 2.1 NOM COMMUN

Spinosad

### 2.2 DENOMINATION CHIMIQUE

Mélange de spinosyne A et de spinosyne D, dans des proportions spinosynes A:D comprises entre 50:50 et 95:5. La répartition typique pour le spinosad est à un ratio A:D de 86:14 qui sera utilisé pour l'évaluation du risque environnemental (WHO, 2005).

Spinosyne A :

Nom IUPAC :

(2R,3aS,5aR,5bS,9S,13S,14R,16aS,16bR)-2-(6-deoxy-2,3,4-tri-O-méthyl- $\alpha$ -L-mannopyranosyloxy)-13-(4-diméthylamino-2,3,4,6-tétradeoxy- $\beta$ -D-érythro-pyranosyloxy)-9-éthyl-2,3,3a,5a,6,7,9,10,11,12,13,14,15,16a,16b-hexadécahydro-14-méthyl-1H-8-oxacyclododéca[b]as-indacène-7,15-dione

Nom CA :

[2R-[2R\*,3aS\*,5aR\*,5bS\*,9S\*,13S\*(2R\*,5S\*,6R\*),14R\*,16aS\*,16bR\*]]-2-[(6-deoxy-2,3,4-tri-O-méthyl- $\alpha$ -L-mannopyranosyl)oxy]-13-[[5-(diméthylamino)tétrahydro-6-méthyl-2H-pyran-2-

yl]oxy]-9-éthyl-2,3,3a,5a,5b,6,9,10,11,12,13,14,16a,16b-tétradécahydro-14-méthyl-1H-as-indacéno(3,2-d)oxacyclododécin-7,15-dione

### Spinosyne D :

Nom IUPAC :

(2R,3aS,5aR,5bS,9S,13S,14R,16aS,16bR)-2-(6-deoxy-2,3,4-tri-O-méthyl- $\alpha$ -L-mannopyranosyloxy)-13-(4-diméthylamino-2,3,4,6-tétradeoxy- $\beta$ -D-érythro-pyranosyloxy)-9-éthyl-2,3,3a,5a,6,7,9,10,11,12,13,14,15,16a,16b-hexadécahydro-4,14-diméthyl-1H-8-oxacyclododéca[b]as-indacène-7,15-dione

Nom CA :

[2S-[2R\*,3aS\*,5aR\*,5bR\*,9R\*,13R\*(2S\*,5R\*,6S\*),14S\*,16aR\*,16bR\*]]-2-[(6-deoxy-2,3,4-tri-O-méthyl- $\alpha$ -L-mannopyranosyl)oxy]-13-[[5-(diméthylamino)tétrahydro-6-méthyl-2H-pyran-2-yl]oxy]-9-éthyl-2,3,3a,5a,5b,6,9,10,11,12,13,14,16a,16b-tétradécahydro-4,14-diméthyl-1H-as-indacéno(3,2-d)oxacyclododécin-7,15-dione

## 2.3 N° CEE ET/OU N° CAS

	Spinosyne A	Spinosyne D
N° CAS	131929-60-7	131929-63-0
N° CIPAC	636	
N° CEE	434-300-1	

## 2.4 FORMULE MOLECULAIRE ET FORMULE STRUCTURALE DEVELOPPEE; MASSE MOLAIRE

	Spinosyne A	Spinosyne D
Formule moléculaire	C <sub>41</sub> H <sub>65</sub> NO <sub>10</sub>	C <sub>42</sub> H <sub>67</sub> NO <sub>10</sub>
Masse molaire (g/mol)	732	746

## 2.5 ORIGINE ET MODE D'ACTION BIOLOGIQUE

Le spinosad est un bio-insecticide d'origine biologique (famille chimique des naturalites) composé principalement d'un mélange de deux métabolites (spinosynes A et D) synthétisés par la bactérie *Saccharopolyspora spinosa*, du groupe des actinomycètes.

Le spinosad possède un double mode d'action biologique : par contact et par ingestion.

Une fois absorbé, le spinosad atteint rapidement le système nerveux central et provoque une paralysie totale de l'organisme qui ne peut plus s'alimenter.

Le mode d'action du spinosad est unique car il agit à la fois sur les récepteurs GABA et nicotiques (IRD, 2006).

### 3 PROPRIETES PHYSIQUES ET CHIMIQUES DE LA FORMULATION ETUDIEE

SUCCESS® 4 est une suspension concentrée (code GIFAP SC) contenant du spinosad (substance active) à 480 g/L.

Les données de physico-chimie sur la formulation SUCCESS® 4 ne sont pas disponibles aux rédacteurs de ce document.

Le degré de pureté et la nature des impuretés de la substance active constitutive du produit larvicide susceptible d'être utilisé dans le cadre de la LAV à la Réunion n'ont pas été rendus connus. Néanmoins, les évaluations de la substance active effectuées par l'OMS (Organisation Mondiale de la Santé) et par les différents organismes officiels tiennent compte du degré de pureté de la substance ainsi que des éventuelles impuretés pour tirer leur conclusion pour les différents points finaux considérés. Ainsi, la présente évaluation présente les résultats pour la substance active avec une composition typique requise pour la commercialisation, comme la substance active qui devrait être utilisée dans le produit larvicide.

La nature des coformulants entrant dans la composition du SUCCESS® 4 n'étant pas disponible aux rédacteurs de ce document, l'impact de ces composés sur l'homme et l'environnement n'a pas été estimé.

### 4 PROPRIETES PHYSIQUES ET CHIMIQUES DE LA SUBSTANCE ACTIVE

#### 4.1 POINT DE FUSION, POINT D'EBULLITION, DENSITE RELATIVE

	Méthode	Spinosyne A	Spinosyne D	Spinosyne A+D
<b>Point de fusion (°C)</b> Source : WHO (2005), AFSSA (2006)	OCDE 102 Méthode CEE A1	de 84 à 99,5	de 161,5 à 170	de 110 à 123
<b>Point d'ébullition (°C)</b> Source : IPCS- INCHEM ICSC 1502 (2004)		173 (décomposition)		

La densité relative du spinosad est de 0,512 à 20°C (ARLA, 2001).

## 4.2 PRESSION DE VAPEUR (EN PA)

	Méthode	Spinosyne A	Spinosyne D	Spinosynes A+D
Pression de vapeur à 25°C (Pa) *	OCDE 104 Méthode CEE A4, méthode d'effusion et de perte de masse de Knudsen	$3,0 \cdot 10^{-8}$	$2,0 \cdot 10^{-8}$	-
Constante de Henry (Pa.m <sup>3</sup> .mol <sup>-1</sup> ) **		$1,89 \cdot 10^{-7}$	$2,32 \cdot 10^{-5}$	-

\* WHO (2005), AFSSA (2006), ARLA (2001)

\*\* AFSSA (2006)

Compte tenu de ces valeurs faibles, le spinosad peut être considéré comme non volatil à partir de sols humides ou de plans d'eau.

## 4.3 ASPECT (ETAT PHYSIQUE, COULEUR)

Etat physique :

Solide (AFSSA (2006))

Couleur :

Blanc (AFSSA (2006))

Odeur :

Odeur d'eau croupie (AFSSA (2006))

## 4.4 SPECTRES D'ABSORPTION (UV/VIS, IR, RMN), ET SPECTROMETRIE DE MASSE, EXTINCTION MOLECULAIRE AUX LONGUEURS D'ONDE ADEQUATES, LE CAS ECHEANT

Les spectres UV ont été analysés et donnent les résultats suivant (ARLA (2001)) :

Spectre UV/vis	Spinosyne A			Spinosyne D		
		$\lambda_{\max}$	$\epsilon$ (mol/cm)		$\lambda_{\max}$	$\epsilon$ (mol/cm)
	Méthanol	243,2	$1,10 \cdot 10^5$	Méthanol	242,6	$1,10 \cdot 10^5$
		201,0	$6,77 \cdot 10^4$		203,0	$1,08 \cdot 10^5$
	Basique	244,0	$1,09 \cdot 10^5$	Basique	243,6	$1,10 \cdot 10^5$
		Acide	244,2		$1,08 \cdot 10^5$	Acide
			200,2	$5,73 \cdot 10^4$		202,8

#### 4.5 SOLUBILITE DANS L'EAU, NOTAMMENT INFLUENCE DU PH (5 A 9) ET DE LA TEMPERATURE SUR LA SOLUBILITE, LE CAS ECHEANT

	Spinosyne A	Spinosyne D	Source
Solubilité dans l'eau à 20°C*	290 mg/L à pH 5 235 mg/L à pH 7 16 mg/L à pH 9	28,7 mg/L à pH 5 0,332 mg/L à pH 7 0,053 mg/L à pH 9	AFSSA (2006)
Solubilité dans les solvants organiques à 20°C	Acétate d'éthyle : 194 g/L Acétone : 168 g/L Acétonitrile : 134 g/L Dichlorométhane : 525 g/L Heptane : 12,4 g/L Hexane : 4,48 g/L Méthanol : 190 g/L Propan-2-ol : 39,8 g/L 1-octanol : 9,26 g/L Toluène : 457 g/L Xylène : > 250 g/L	Acétate d'éthyle : 19 g/L Acétone : 10,1 g/L Acétonitrile : 2,55 g/L Dichlorométhane : 448 g/L Heptane : 0,3 g/L Hexane : 0,743 g/L Méthanol : 2,52 g/L Propan-2-ol : 1,29 g/L 1-octanol : 1,27 g/L Toluène : 152 g/L Xylène : 64 g/L	AFSSA (2006)

\* Les valeurs de solubilité dans l'eau sont anormalement différentes entre les 2 composés qui ne diffèrent structurellement que par la présence d'un CH<sub>3</sub> en plus sur la spinosyne D. Néanmoins, ces valeurs sont considérées pertinentes, puisque obtenues expérimentalement.

Les constantes de dissociation dans l'eau des spinosynes A et D sont résumées dans le tableau suivant :

	Méthode	Spinosyne A	Spinosyne D	Spinosynes A+D
<b>Constante de dissociation à 20°C</b> Source : AFSSA (2006)	OCDE 112 (électrophorèse capillaire)	pKa = 8,1	pKa = 7,87	-

#### 4.6 COEFFICIENT DE PARTAGE N-OCTANOL/EAU, Y COMPRIS INFLUENCE DU PH (5 A 9) ET DE LA TEMPERATURE

	Spinosyne A	Spinosyne D	Source
Log P à 23°C	2,78 à pH 5 4,01 à pH 7 5,16 à pH 9	3,23 à pH 5 4,53 à pH 7 5,21 à pH 9	AFSSA (2006)

---

#### 4.7 STABILITE THERMIQUE, IDENTITE DES PRODUITS DE DEGRADATION CORRESPONDANTS

---

Le spinosad est stable jusqu'à 173°C.

	Méthode	Spinosyne A	Spinosyne D	Spinosyne A+D
<b>Température de décomposition (°C)</b> Source : WHO (2005), AFSSA (2006)	Analyse thermique différentielle	Début de décomposition à 172°C, 92 % de perte de masse pendant chauffage jusqu'à 400°C		

---

#### 4.8 INFLAMMABILITE, Y COMPRIS AUTO-INFLAMMABILITE ET IDENTITE DES PRODUITS DE COMBUSTION

---

Donnée non disponible.

---

#### 4.9 POINT D'ECLAIR

---

Donnée non disponible.

---

#### 4.10 TENSION SUPERFICIELLE

---

Donnée non disponible.

---

#### 4.11 PROPRIETES EXPLOSIVES

---

Donnée non disponible.

---

#### 4.12 PROPRIETES OXYDANTES

---

Donnée non disponible.

---

#### 4.13 REACTIVITE A L'EGARD DES MATERIAUX DU RECIPIENT

---

Donnée non disponible. L'expérience montre que dans les conditions d'utilisation il n'y a pas de réactivité particulière à l'égard des matériaux du récipient.

## 5 DEVENIR ET COMPORTEMENT DANS L'ENVIRONNEMENT

### 5.1 DEGRADATION

#### 5.1.1 Biotique

##### 5.1.1.1 Dégradation dans le sol en conditions aérobies

Les informations disponibles sont résumées dans les tableaux ci-dessous.

Tableau II.1 : Dégradation aérobie du spinosad dans le sol en conditions de laboratoire

Dégradation en conditions aérobies (laboratoire)		
	Spinosyne A	Spinosyne D
<b>Données AFSSA (2006) :</b>		
Minéralisation	6,3 % à 91 jours	1,3 à 8,7 % à 84 - 91 jours
Résidus non extractibles	8,1 à 39 % à 80 - 91 jours	12 à 33 % à 84 - 91 jours
DT <sub>50</sub> s.a. (jours)	11 à 42 (28 moyenne arithmétique)	16 à 63 (41 moyenne arithmétique)
DT <sub>90</sub> s.a. à 20°C(jours)	93	136
Métabolites formés	Spinosyne B Max : 67 % à 182 jours	Spinosyne D N-deméthylé Max : 68 % à 237 jours
à 20°C :	Spinosyne B :	Spinosyne D N-deméthylé :
DT <sub>50</sub> métabolite (jours)	157-194 (176 moyenne arithmétique)	531
DT <sub>90</sub> métabolite (jours)	585	1760

Tableau II.2 : Dégradation aérobie du spinosad dans le sol au champ

Dégradation en conditions aérobies (champ)		
	Spinosyne A	Spinosyne D
<b>Données AFSSA (2006) :</b>		
DT <sub>50</sub> s.a. (jours)	< 1	
DT <sub>90</sub> s.a. (jours)	< 3.3	
à 28-32°C	(Sol US)	
DT <sub>50</sub> s.a. (jours)	2,37	3,51
DT <sub>90</sub> s.a. (jours)	-	-

	(Sol UK, cinétique FOMC*)	(Sol UK, cinétique FOMC)
DT <sub>50</sub> métabolite (jours)	Spinosyne B 2,11	Spinosyne D N déméthylé 3,77
DT <sub>90</sub> métabolite (jours)	- (Sol UK, cinétique FOMC)	- (Sol UK, cinétique FOMC)

\*FOMC dissipation bi-phasique, définition Gustafson-Holden

#### 5.1.1.2 Dégradation dans le sol en conditions anaérobies

Donnée non disponible

#### 5.1.1.3 Phototransformation dans le sol

La phototransformation du spinosyne A et du spinosyne D a été étudiée sur le sol (ARLA (2001)): les DT<sub>50</sub> obtenues sont respectivement de 82 et 44 jours. Seuls des produits mineurs (< 10 %) se sont formés.

### 5.1.2 **Abiotique**

#### 5.1.2.1 Hydrolyse en fonction du pH et identification du ou des produits de la dégradation

D'après les études conduites selon les lignes directrices de la FIFRA (n° 161-1), les spinosyne A et D sont résistants à l'hydrolyse dans des solutions aqueuses tamponnées et stériles à 25°C. Aucune hydrolyse n'a été détectée à pH 5 pour les deux substances. Pour le spinosyne A, les temps de demi-vie sont de 648 et 200 jours à pH 7 et 9 respectivement. Pour la spinosyne D, il n'y a pas d'hydrolyse observée à pH 7, et le temps de demi-vie est de 259 jours à pH 9. (WHO (2005), AFSSA (2006) et ARLA (2001))

#### 5.1.2.2 Phototransformation dans l'eau, y compris l'identité des produits de la transformation

D'après les études conduites selon les lignes directrices de la FIFRA (n° 161-2) (WHO (2005) et AFSSA (2006)), les spinosyne A et D sont très rapidement dégradées par photolyse. Les temps de demi-vie en solution aqueuse tamponnée diluée (pH 7, 25°C) sont respectivement de 0,96 et 0,84 jour pour la spinosyne A et la spinosyne D, sous lumière naturelle d'été (juin-juillet, Greenfield, Indiana, 39.8°N). Ces conditions standardisées sont légèrement différentes de celles de l'Île de la Réunion, mais les résultats peuvent être utilisés dans ce contexte local, puisque les temps de demi-vie sont courts et les fortes températures et humidité de la Réunion auraient plutôt tendance à diminuer encore ces temps de demi-vie plutôt qu'à les rallonger.

Le rendement quantique est  $\phi = 0,02$ .

Les produits de photolyse dans l'eau sont :

Métabolite de la spinosyne A : M3=beta-13,14-dihydropseudoaglycone de spinosyne A (24,9 %)

Métabolite de la spinosyne D : M4=beta-13,14-dihydropseudoaglycone de spinosyne D (10.2 %)

Les données de toxicité sur ces composés n'étaient pas disponibles. Néanmoins, on peut considérer qu'ils ne devraient pas apporter de préoccupation particulière. De manière générale, les dérivés glycone étant moins toxiques que le composé parent.

### 5.1.2.3 Métabolisme aquatique en conditions aérobies

Les informations issues d'une étude eau-sédiment en laboratoire concernant la dissipation aérobie du spinosad sont présentées ci-dessous :

Tableau II.3 : Dégradation aérobie du spinosad en systèmes eau/sédiment

	Spinosyne A	Spinosyne D
<b>Dégradation en conditions aérobies (laboratoire, obscurité, 20°C)</b>		
Minéralisation	0,3 % à 120 jours	0,3 % à 120 jours
Résidus non extractibles	21 % à 120 jours	42 % à 120 jours
% max de s.a. dans la phase sédiment	68,8 % à 30 jours	61,7 % à 58 jours
Métabolites formés	Spinosyne B :	Spinosyne D N-deméthylé :
Max dans le sédiment	9 % à 120 jours	10 % à 120 jours
Max dans l'eau	6 % à 1 jour	9,3 % à 7 jours
DT <sub>50</sub> s.a. (j) phase EAU	14 – 27	
DT <sub>90</sub> s.a. (j) phase EAU	46 – 89	
DT <sub>50</sub> s.a. (j) système total	103 – 176	
DT <sub>90</sub> s.a. (j) système total	333 – 581	
(cinétiques du 1 <sup>er</sup> ordre)		

Une étude a été conduite en plein champ avec la formulation NAF-85 (contenant 480 g spinosad/L), dans un microcosme aquatique (ARLA (2001)). La DT<sub>50</sub> du spinosad a été évaluée à 2-3 jours et la DT<sub>90</sub> < 4 jours. L'augmentation de vitesse par rapport au laboratoire est liée à une photodégradation (voir étude de laboratoire).

Les spinosynes A et D ne sont pas persistantes en eau peu profonde. Toutefois, l'atténuation de la lumière dans l'eau s'intensifiant avec la profondeur, il se peut que le spinosad soit plus persistant en eau profonde et qu'il persiste dans les sédiments.

### 5.1.2.4 Métabolisme aquatique en conditions anaérobies

Les informations d'une étude conduite en système eau-sédiment en conditions anaérobies (AFSSA (2006)) sont résumées ci-dessous :

Tableau II.4 : Dégradation anaérobie du spinosad en systèmes eau/sédiment

	Spinosyne A	Spinosyne D
<b>Dégradation en conditions anaérobies (laboratoire, obscurité, 25°C)</b>		
Minéralisation	0,3 % à 364 jours	1,9 % à 364 jours
Résidus non extractibles	17 % à 364 jours	16 % à 364 jours
% max de s.a. dans la phase sédiment	76 % à 3 jours	74 % à 3 jours
DT <sub>50</sub> s.a. (j) phase EAU		< 7
DT <sub>90</sub> s.a. (j) phase EAU		< 23
DT <sub>50</sub> s.a. (j) phase SED		267 – 539
DT <sub>90</sub> s.a. (j) phase SED		887 – 1790
DT <sub>50</sub> s.a. (j) système total		239 – 443
DT <sub>90</sub> s.a. (j) système total		794 – 1470
(cinétiques du 1 <sup>er</sup> ordre)		

Une partie importante de spinosyne A et de spinosyne D est adsorbée sur les sédiments dans les 7 premiers jours. Les principaux produits de transformation dans les sédiments de la spinosyne A sont les composés 1 et 2 « inconnus » (facteurs J) ainsi que le cétopseudoaglycone inverse (composé 814426). Le seul produit de transformation de la spinosyne D a été le composé 5 « inconnu ».

#### 5.1.2.5 Biodégradabilité facile

La substance active n'est pas classée comme étant facilement biodégradable (AFSSA, 2006).

#### 5.1.2.6 Biodégradabilité intrinsèque, le cas échéant

Donnée non disponible.

## 5.2 ETUDES D'ADSORPTION/DESORPTION

### 5.2.1 adsorption/désorption

Les études d'adsorption des composants du spinosad et de ses métabolites donnent les valeurs de Koc suivantes (AFSSA (2006)) :

Spinosyne A : Koc entre 835 et 143 225.

Spinosyne D : On suppose que les caractéristiques d'adsorption du spinosyne D sont semblables à celles de la spinosyne A.

Spinosyne B (métabolite de la spinosyne A) : Koc entre 665 et 75 650.

Spinosyne D N-deméthylé : On suppose que les caractéristiques d'adsorption de la spinosyne D N-deméthylé sont semblables à celles de la spinosyne B.

Les coefficients d'adsorption montrent une plage très importante de valeurs d'adsorption dans les sols, ce qui justifie pour les évaluations de risques d'utiliser des valeurs les plus faibles.

Ces données sont cohérentes avec l'évaluation du spinosad dont les résultats sont présentés dans le tableau suivant ARLA (2001):

Tableau II.5 : Valeurs de Koc de la spinosyne A et de la spinosyne B

Sols	Spinosyne A	Spinosyne B
Sable	2 862	2 138
Sable limoneux	844	672
Limon sableux	4 310	2 931
Limon limoneux	140 434	77 826
Limon argileux	24 397	-

## 5.2.2 Autres études

Une étude sur colonnes de résidus après incubation a été conduite (AFSSA (2006)) avec la substance active sur sol sableux, avec une élution de 100 mm à 2 jours, après incubation pendant 34 jours.

Résultats : 1.7 % de la radioactivité appliquée a été retrouvée dans les éluats.

Une étude sur colonne de sol a été conduite (AFSSA (2006)) avec la substance active sur sol sableux, avec une élution de 100 mm à 2 jours, sans vieillissement.

Résultats : < 1 % de la radioactivité appliquée a été retrouvé dans les éluats.

A priori la mobilité de la substance active ainsi que de ses produits de dégradation dans le sol est donc réduite compte tenu des informations présentes.

## 5.3 DEVENIR ET COMPORTEMENT DANS L'AIR

### 5.3.1 Vitesse de dégradation dans l'air

Selon les calculs d'Atkinson (modèle de dégradation photo-oxidative dans l'air basé sur une réactivité additive), la DT<sub>50</sub> du spinosad est comprise (pour les 2 métabolites spinosynes A et D) entre 0,32 et 0,33 heures (AFSSA (2006)).

### 5.3.2 Volatilisation

La volatilisation du spinosad depuis la surface des plantes est de 0,1 à 1,6 après 24 heures, et de -0,4 à -0,1 après 24 heures depuis la surface du sol (AFSSA (2006)).

## 6 EVALUATION DU RISQUE POUR L'ENVIRONNEMENT

Le spinosad est utilisé en formulation de type suspension concentrée, de concentration allant de 120 à 480 g/L. En lutte antivectorielle, la dose recommandée est de 12 à 35 g/ha. La durée d'efficacité est de 1 semaine. Les calculs suivants sont fait avec la dose maximale de 35 g de substance active/ha, avec 2 applications à 7 jours d'intervalle.

Le mode d'application considéré est une pulvérisation directe sur plans d'eau et autres milieux aquatiques territoriaux. Le milieu marin n'est pas concerné par les applications.

Le spinosad technique utilisé pour les études de toxicité 771 g/kg de spinosyne A et 122 g/kg de spinosyne D, ce qui est considéré comme une répartition typique pour le spinosad. Ceci équivaut à un ratio A:D de 86 :14 qui sera utilisé pour l'évaluation du risque environnemental.

Dans ce contexte le risque environnemental comprend la possibilité d'accumulation dans les systèmes environnementaux (sols, systèmes eaux sédiments) ainsi que de la percolation vers des nappes phréatiques pour lesquelles de l'eau potable pourrait être extraite et les milieux marins. Pour ces paramètres des critères réglementaires ont été définis de façon contraignante.

### 6.1 VOIE ET VITESSE DE DEGRADATION DANS L'AIR

Le groupe de travail européen FOCUS Air (FOCUS, 2005) a proposé des valeurs seuil pour les pressions de vapeur des substances afin d'établir si une substance est susceptible de contaminer l'air ou non. Il est ainsi considéré que pour une pression de vapeur inférieure à  $10^{-4}$  Pa à 20°C, une substance ne sera pas volatilisée de manière significative dans l'air. Etant données la faible pression de vapeur de la spinosyne A,  $3,0 \cdot 10^{-8}$  Pa (25°C) et de la spinosyne B,  $2,0 \cdot 10^{-8}$  Pa (25°C), la volatilité du spinosad est considéré e comme non significative.

Le programme prédictif AOPwin (Atmospheric Oxidation Program for Microsoft Windows) appartient à l'interface EPIWIN v3.12 de l'US EPA et est basé sur les relations structures/activités (Quantitative Structure/Activity Relationships, QSAR) et permet d'estimer la vitesse de réaction entre les substances chimiques à l'état gazeux et les radicaux hydroxyles produits photochimiquement dans l'atmosphère. Il permet également d'estimer la vitesse de la réaction (à l'état gazeux) entre l'ozone et les composés de type oléfiniques/acétyléniques. Les vitesses ainsi estimées sont ensuite utilisées pour calculer les demi-vies atmosphériques des composés organiques à partir des concentrations moyennes atmosphériques des radicaux hydroxyles et de l'ozone.

Le programme AOPwin v1.91 a permis de fournir les estimations suivantes.

$$K_{O_3} = 27,39 \cdot 10^{-17} \text{ cm}^3/\text{molc}/\text{sec}$$
$$K_{OH} \text{ rate} = 314,71 \cdot 10^{-12} \text{ cm}^3/\text{molc}/\text{sec}$$

Ainsi, on peut estimer que même si il y avait une légère volatilisation, la dégradation dans l'air étant rapide ( $DT_{50} = 0,33$  heures), la Concentration Prévisible dans l'Environnement dans l'air ( $CPE_{air}$ ) serait négligeable.

---

## 6.2 VOIE ET VITESSE DE DEGRADATION DANS L'EAU

---

### 6.2.1 Devenir dans les eaux de surface

Les principales données de devenir et comportement du spinosad dans l'eau ont été présentées au paragraphe 4.1 et sont brièvement rappelées ici.

En solution aqueuse tamponnée et à 25°C, la spinosyne A ne s'hydrolyse pas à pH 5, et a une demi-vie de 648 jours à pH 7 et 200 jours à pH 9. Dans les mêmes conditions, la spinosyne D ne s'hydrolyse pas à pH 5 et 7, et sa demi-vie est de 259 jours à pH 9.

Les spinosynes A et D sont très rapidement dégradées par photolyse avec des demi-vies inférieures à 1 jour en solution aqueuse tamponnée diluée (pH 7, 25°C) sous lumière naturelle d'été (juin-juillet, Greenfield, Indiana, 39,8°N). Les métabolites formés sont :

- Métabolite du spinosyne A : M3=beta-13,14-dihydropseudoaglycone de spinosyne A (24,9 %)
- Métabolite du spinosyne D : M4=beta-13,14-dihydropseudoaglycone de spinosyne D (10,2 %)

La dégradation du spinosad en systèmes eau/sédiment en conditions anaérobies est rapide dans la phase eau ( $DT_{50} < 7$  jours) et lente dans le système total ( $DT_{50}$  entre 239 et 443 jours). Les maximums retrouvés dans les sédiments sont de 76 % pour le spinosyne A et de 74 % pour le spinosyne D.

La dégradation du spinosad en systèmes eau/sédiment en conditions aérobies est rapide dans la phase eau ( $DT_{50}$  entre 14 et 27 jours) et plus lente dans le système total ( $DT_{50}$  entre 103 et 176 jours). Les maximums retrouvés dans les sédiments sont de 68,8 % pour le spinosyne A et de 61,7 % pour le spinosyne D. Les métabolites formés sont le spinosyne B (à partir du spinosyne A, maximum 6% de spinosad A appliqué dans l'eau et 9 % dans le sédiment) et le spinosyne D N-déméthylé (à partir du spinosyne D, maximum 9,3 % de spinosad D appliqué dans l'eau et maximum 10 % dans le sédiment).

Habituellement, l'évaluation des risques pour l'environnement des biocides est conduite selon les recommandations du Document Guide Technique (TGD, Technical Guidance Document). Toutefois, aucun scénario d'émission standard (ESD, Emission Scenario Document) n'est disponible pour les usages de larvicides en plein air et plus particulièrement pour le cas des applications directes sur les eaux de surface. Par conséquent, le modèle EUSES n'a pas été utilisé pour les applications du spinosad dans le cas considéré ici, et un scénario simplifié d'émission de la substance dans l'environnement a été considéré.

Les calculs ont été conduits en considérant la dose maximum de produit contenant du spinosad appliquée, soit 35 g/ha de spinosad, ainsi que le nombre maximum d'applications, soit 2 applications espacées de 7 jours. En application directe sur plan d'eau, 100 % de la substance active est supposée atteindre les eaux de surface.

Un plan d'eau stagnante d'une superficie correspondant à la superficie traitée et de 30 cm de profondeur a été considéré pour les calculs de  $CPE_{\text{eau de surface}}$ . Ce scénario est pris par défaut, il est représentatif des cours d'eau et eaux stagnantes, et représente un cas défavorable pour les zones traitées (DIREN Réunion, 2006a).

Selon les recommandations françaises (SSM, 2004), la  $CPE_{\text{esu}}$  après application directe est égale à :

Pour une application :

$$CPE_{1 \text{ application}} (\mu\text{g/L}) = \text{dose appliquée (g s.a./ha)} \times 1/3$$

Pour n applications :

$$CPE_{\text{après la dernière application}} (\mu\text{g/L}) = CPE_{1 \text{ application}} + CPE_{\text{résiduelle des précédentes applications}}$$

A partir de la  $CPE_{1 \text{ application}}$ , une concentration moyenne pondérée par le temps ( $CPE_{\text{esu, mpt}}$ ) est également calculée sur une période couvrant la durée totale de toutes les applications; plus 42 jours après la dernière application. De cette manière, la  $CPE_{\text{esu, mpt}}$  tient compte de :

- la dégradation de la substance
- le nombre d'applications
- l'intervalle entre les applications

Les calculs de  $CPE_{\text{esu, mpt}}$  sont réalisés selon l'équation suivante :

$$CPE_{\text{esu, mpt}} = CPE_{\text{esu}} \frac{DT_{50}}{d \cdot \ln(2)} (1 - e^{(-d \cdot \ln(2)/DT_{50})})$$

Ainsi, lorsque la substance active se dissipe de la phase aqueuse, l'aire sous la courbe est calculée et divisée par le nombre de jours, permettant de prendre en compte une exposition constante pendant toute la période considérée.

Les concentrations des métabolites sont calculées de la même façon que pour le parent considérant une (des) application(s) directe(s) du métabolite au pourcentage maximal retrouvé lors des études eau-sédiment.

Tableau II.6 : Paramètres du spinosad et des métabolites utilisés pour le calcul des  $CPE_{\text{esu}}$

<b>Substance active</b>	<b>Spinosad</b>	
Proportion spinosyne A:D	86:14	
DT <sub>50</sub> eau :	27	jours
Masse molaire :	732	g/mol
<b>Métabolite de spinosyne A</b>	<b>Spinosyne B</b>	
DT <sub>50</sub> eau :	stable	(Non calculé)
Maximum dans l'eau (% spinosyne A) :	6	%
Maximum équivalent (% spinosad)	5,16	%
Masse molaire :	717	g/mol
<b>Métabolite de spinosyne D</b>	<b>Spinosyne D déméthylé</b>	
DT <sub>50</sub> eau :	stable	(Non calculé)
Maximum dans l'eau (% spinosyne D) :	9,3	%
Maximum équivalent (% spinosad)	1,3	%
Masse molaire :	731	g/mol
<b>Application</b>		
Dose d'application :	35	g s.a/ha
Nombre d'applications :	2	applications
Intervalle entre les applications :	7	jours

Tableau II.7 : Résultats de  $CPE_{esu}$  obtenus spinosad

$CPE_{esu}$ , 1 application :	11,67	$\mu\text{g/L}$
$CPE_{esu}$ , dernière application :	21,41	$\mu\text{g/L}$

$CPE_{esu}$	Jours après la dernière application	Concentration instantanée ( $\mu\text{g/L}$ )	Concentration pondérée ( $\mu\text{g/L}$ )
Initiale	0	21,41	21,41
Court terme	1	20,87	21,14
	2	20,34	20,87
	4	19,32	20,35
Long terme	7	17,89	19,60
	14	14,95	17,99
	21	12,49	16,55
	28	10,44	15,27
	42	7,29	13,10

Tableau II.8 : Résultats de  $CPE_{esu}$  obtenus spinosyne B

$CPE_{esu}$ , 1 application, spinosad :	11,67	$\mu\text{g/L}$
$CPE_{esu}$ , max, spinosyne B :	1,18	$\mu\text{g/L}$

Tableau II.9 : Résultats de  $CPE_{esu}$  obtenus spinosyne D déméthylé

$CPE_{esu}$ , 1 application, spinosad :	11,67	$\mu\text{g/L}$
$CPE_{esu}$ , max, spinosyne D déméthylé :	0,317	$\mu\text{g/L}$

## 6.2.2 Devenir dans les eaux souterraines

Considérant l'usage larvicide du spinosad, le produit est appliqué par pulvérisation directe sur plan d'eau, ce qui peut entraîner la contamination des sols par dérive de la substance active. Dans des cas extrêmes (applications sur véhicules motorisés), le mode d'application est supposé générer une dérive maximale. Comme la dérive sur de tels dispositifs n'est pas connue, nous avons utilisé des valeurs mesurées maximales pour des appareils de pulvérisation soit correspondant une dérive à 3 m de la zone traitée et qui correspondent à celles d'une application aérienne, soit 33,2 % de la dose appliquée (modèle AgDrift, STDF 1999). Ce coefficient de dérive est présenté dans les documents FOCUS relatifs à la contamination des eaux de surface (FOCUS, 2001).

Les modèles existants de percolation permettant usuellement de réaliser l'évaluation des risques de contamination des eaux souterraines, à l'aide de scénarios standards FOCUS (FOCUS, 2000) (correspondant à des sol et climats européens) ne sont pas a priori applicables aux conditions environnementales de l'Île de la Réunion, une île volcanique à climat tropical humide :

- Les températures moyennes sont supérieures (environ 20°C en moyenne dans les zones traitées) et les amplitudes inférieures (environ 5°C)
- Des événements pluvieux importants, jusqu'à plus de 200 mm/jour, ne peuvent être pris en compte par les scénarios FOCUS
- Le type de sol est spécifique à ce type d'île (roche volcanique, propriétés d'adsorptions particulières). En effet des résultats d'études d'adsorption utilisant des types de sols typiques de zone agricoles de canne à sucre (inceptisols) ont démontré une plus grande affinités des colloïdes du sol à mettre sans doute en relation avec le type de minéraux argileux originaires de matériaux volcaniques.
- Le relief est très accidenté sur l'île avec des pentes importantes (en moyenne 6 % sur la façade ouest où se trouvent les principales zones de captage).
- L'humidité de l'air est très importante et peut affecter le passage de l'eau dans le sol.

Globalement on peut cependant estimer que les précipitations peuvent être très importantes aussi bien en moyenne mensuelle/annuelle que pour des durées plus courtes. Nombre de records mondiaux sont ainsi détenus pour des valeurs enregistrées à la Réunion. Nous pouvons de plus estimer que les sols sont riches en argiles et en limons favorisant une adsorption plus élevée que celles rencontrés par des sols continentaux (voir publication ci-dessous), que leur porosité et leur conductivité hydraulique est élevée (compte tenu de leur héritage). Il faut de plus tenir compte de la température et de l'humidité localement importante, ainsi la dégradation dans les sols sera plus élevée comparés aux conditions rencontrées ou utilisés par les modèles couramment utilisés. Ces différents facteurs peuvent ainsi se compenser.

En ce qui concerne la production d'eau potable à la Réunion, nous pouvons estimer que la majorité des eaux potables produites sont d'origine superficielle, et que les captages d'eaux souterraines pour potabilisation sont surtout situées dans la partie littorale (nous avons estimé que les points de prélèvements sont Saint Philippe, Saint Benoit, Sainte Marie, La Possession, Le Port, Saint Paul, Trois Bassins, Etang-Sale, commune de Cilaos) et ainsi plutôt situées dans la région Nord ; Nord Est. Dans ces régions (plutôt semi arides tropicale et littorales) les pluviométries sont donc à priori plus faibles même si comme nous l'avons dit des valeurs très élevées peuvent être enregistrées. Pour toutes ces raisons, nous estimons que ces conditions sont plutôt en faveur d'un risque réduit comparé aux conditions continentales européennes.

Pour obtenir des informations plus quantitatives et en absence de modèle applicable et d'étude spécifique en laboratoire ou en plein champ, nous utiliserons des index globaux de classement de la mobilité des produits.

L'utilisation de ces index a permis de faire par exemple quelques prédictions en conditions réunionnaises (Bernard H. et al., 2005) . Ce sont :

- Gustafson (Gustafson ,1991) a proposé un indice simple et unique du risque de contamination par une substance active, mais qui ne tient pas compte des conditions hydriques locales (Groundwater Ubiquity Score – GUS), qui est donné par la formule suivante:
  - **GUS = log(DT50)(4-log(Koc)).**

Ce sont les pesticides avec un GUS supérieur à 2,8 que l'on détecte en général dans les eaux souterraines, tandis que ceux dont l'indice est inférieur à 1,8 n'y ont pratiquement jamais été mis en évidence. Les valeurs discriminantes suivantes ont été ainsi définies :

- GUS < 1 = risque très faible
  - 1,0 < GUS < 2,0 = risque faible
  - 2,0 < GUS < 3,0 = risque modéré
  - 3,0 < GUS < 4,0 = risque important
  - GUS > 4 = risque très important
- **Le facteur d'atténuation AF et ses dérivés** qui tient compte des propriétés du sol et de la balance hydrique du sol, est défini selon :
    - $AF = \exp[-(0,693*d*\theta_{FC}*RF)/(q*DT_{50})]$  où  $d$  est l'épaisseur de référence (définie ici à 60 cm),  $\theta_{FC}$  ( $cm^3/cm^3$ ) la proportion volumétrique d'eau à la capacité au champ et  $q$  (m/d) est le flux volumétrique d'eau dans le sol.
    - RF est le facteur de retard  $RF = 1 + (\rho_d*f_{oc}*Koc)/(\theta_{FC})$  où  $\rho_d$  ( $g/cm^3$ ) est la masse volumique de sol sec,  $f_{oc}$  (%) la fraction de carbone organique et  $Koc$  le coefficient d'adsorption.
    - L'indexe AFT est défini selon :  $AFT = \ln(AF)/(-0,693)$ 
      - Les classifications correspondant à ces indices sont :

Tableau II.10 : Classifications de mobilité

Index RF	Classification	Index AF	Index AFT	Classification
RF = 1	Très mobile	$2,5e^{-1} \leq AF \leq 1$	AFT ≤ 2	Très probable
1 < RF < 2	Mobile	$1e^{-1} \leq AF < 2,5e^{-1}$	2 ≤ AFT < 3,3	Probable
2 ≤ RF < 3	Modérément mobile	$1e^{-2} \leq AF < 1e^{-1}$	3,3 ≤ AFT < 7,2	Modérément probable
3 ≤ RF < 10	Modérément immobile	$1e^{-4} \leq AF < 1e^{-2}$	7,2 ≤ AFT < 13,3	Improbable
RF ≥ 10	Très immobile	$AF < 1e^{-4}$	AFT > 13,3	Très improbable

Pour une estimation quantitative des données texturales et hydraulique nous avons utilisé les données d'analyse de deux sols de la Réunion situés en région littorale (environ 400 m d'altitude) et au Nord Est (Saint Gilles). Ce sont un andept inceptisol (BA) et un vertic inceptisol (BV). Ce sont des sols communs en zone de production de canne à sucre. Leurs propriétés physicochimiques sont résumées ci-dessous :

Tableau II.11 : Propriétés physico chimiques des sols considérés

Sol	pH-water	pH-KCl	OM %	f <sub>oc</sub> %	CEC cmol/kg	ρ <sub>d</sub> g/cm <sup>3</sup>	θ <sub>FC</sub> cm <sup>3</sup> /cm <sup>3</sup>	argile %	limon %	sable %
BV	6,3	5,2	3,37	1,96	26,6	1,1	0,49	56,7	39,3	4
BA	5,1	4,4	2,91	1,69	9,83	1,2	0,52	30,7	52,2	17,1

L'évaluation de la mobilité du spinosad et de ses métabolites a été effectuée d'une part avec des valeurs moyennes, d'autre part avec des valeurs extrêmes représentant un « pire cas ».

Tableau II.12 : Paramètres d'entrée

Substances	Spinosyne A	Spinosyne D	Spinosyne B	Spinosyne D N-deméthylé
DT <sub>50</sub> maximales (jours) dans le sol	42	63	194	531
K <sub>oc</sub> minimales	835	835	665	665
DT <sub>50</sub> moyennes (jours) dans le sol	28	41	176	531
K <sub>oc</sub> moyens	143 225	143 225	75 650	75 650

Les résultats obtenus des calculs d'index sont les suivants :

Tableau II.13 : Index GUS

GUS :	GUS max	GUS moyen
Spinosyne A-D	1,75	- 0,79
Spinosyne B	2,64	- 0,69
Spinosyne D-déméthylé	3,21	- 0,84

Tableau II.14 : Index RF

RF	RF max		RF moyen	
	BV	BA	BV	BA
Spinosyne A-D	3 675	3 257,5	154 106,6	136 594,6
Spinosyne B	2 927	2 594,5	89 444,2	79 280,2
Spinosyne D-déméthylé	2 927	2 594,5	89 444,2	79 280,2

Tableau II.15 : Index AF, considérant une recharge de 50 mm par jour

AF – 50 mm	AF max		AF moyen	
	BV	BA	BV	BA
Spinosyne A	3,3E-16	2,7E-15	0,0E+00	0,0E+00
Spinosyne D	4,8E-11	1,9E-10	0,0E+00	0,0E+00
Spinosyne B	1,1E-03	1,7E-03	1,2E-90	2,5E-85
Spinosyne D-déméthylé	1,1E-01	1,2E-01	1,6E-30	9,1E-29

Tableau II.16 : Index AF, considérant une recharge de 25 mm par jour

AF – 25 mm	AF max		AF moyen	
	BV	BA	BV	BA
Spinosyne A	1,1E-31	7,4E-30	0,0E+00	0,0E+00
Spinosyne D	2,3E-21	3,8E-20	0,0E+00	0,0E+00
Spinosyne B	1,3E-06	2,9E-06	1,3E-180	6,4E-170
Spinosyne D-déméthylé	1,1E-02	1,5E-02	2,4E-60	8,3E-57

Tableau II.17 : Index AF, considérant une recharge de 10 mm par jour

AF – 10 mm	AF max		AF moyen	
	BV	BA	BV	BA
Spinosyne A	3,8E-78	1,5E-73	0,0E+00	0,0E+00
Spinosyne D	2,4E-52	2,8E-49	0,0E+00	0,0E+00
Spinosyne B	1,9E-15	1,4E-14	0,0E+00	0,0E+00
Spinosyne D-déméthylé	1,3E-05	2,6E-05	9,0E-150	6,3E-141

Tableau II.18 : Index AFT, considérant une recharge de 50 mm par jour

AFT – 50 mm	AFT max		AFT moyen	
	BV	BA	BV	BA
Spinosyne A	51,5	48,4	inf	inf
Spinosyne D	34,3	32,3	inf	inf
Spinosyne B	9,8	9,2	298,8	281,1
Spinosyne D-déméthylé	3,2	3,0	99,0	93,2

Tableau II.19 : Index AFT, considérant une recharge de 25 mm par jour

AFT – 25 mm	AFT max		AFT moyen	
	BV	BA	BV	BA
Spinosyne A	102,9	96,8	inf	inf
Spinosyne D	68,6	64,5	inf	inf
Spinosyne B	19,6	18,4	597,6	562,2
Spinosyne D-déméthylé	6,5	6,1	198,1	186,3

Tableau II.20 : Index AFT, considérant une recharge de 10 mm par jour

AFT – 10 mm	AFT max		AFT moyen	
	BV	BA	BV	BA
Spinosyne A	102,9	96,8	inf	inf
Spinosyne D	68,6	64,5	inf	inf
Spinosyne B	19,6	18,4	597,6	562,2
Spinosyne D-déméthylé	6,5	6,1	198,1	186,3

Considérant des propriétés moyennes (de dégradation), le spinosad et ses métabolites ne présentent ainsi peu ou pas de risque de contamination des eaux souterraines étant classés comme immobiles par les diverses index de classification.

Considérant des propriétés extrêmes, le spinosad ne présente pas de même de risque de contamination des eaux souterraines étant classés comme immobiles par les diverses index de classification. Ses métabolites, spinosyne B et spinosyne D-déméthylé sont considérés comme étant de risque faible à important (pour le spinosyne D-déméthylé). Cependant, le spinosyne D-déméthylé est formé en faibles quantités étant donné que le spinosyne D, son précurseur, est très minoritaire dans le spinosad (84 % spinosyne A, 16 % spinosyne D).

Le cas défavorable d'adsorption ne représente pas une valeur réaliste pour l'Île de la Réunion. En effet, comme présenté plus haut, des résultats d'études d'adsorption utilisant des types de sols typiques de zone agricoles de canne à sucre (inceptisols) ont démontré une plus grande affinités des colloïdes du sol à mettre sans doute en relation avec le type de minéraux argileux originaires de matériaux volcaniques. Une adsorption relativement élevée paraît donc vraisemblable, et l'utilisation d'une valeur moyenne de Koc (malgré l'important écart entre les valeurs extrêmes) est donc justifiable.

Compte tenu de ces résultats il ne nous semble pas nécessaire d'effectuer des mesures d'adsorption en utilisant des sols originaires de la Réunion.

---

### 6.3 VOIE ET VITESSE DE DEGRADATION DANS LES SEDIMENTS

---

Méthode de calcul

Les Concentrations Prévisibles Environnementales dans les sédiments ( $CPE_{sed}$ ) ont été calculées en considérant le même plan d'eau stagnante que pour les eaux de surface ( $100 \times 100 \times 0,3 \text{ m}^3$ ) avec une couche de sédiment de 5 cm de profondeur et un poids sec de  $0,8 \text{ g/cm}^3$  (SSM, 2004)

$$CPE_{sed}(t), (\text{mg/kg}) = \frac{CPE_{ini,sw} * V_{sw} * P_{sed}(t)}{V_{sed} * bd_{sed} * 100}$$

Avec :

- $CPE_{ini,esu}$  : CPE initiale dans les eaux de surface
- $V_{esu}$  : volume d'eau (300 L)
- $P_{sed}(t)$  : % de substance active dans le sédiment au temps t
- $V_{sed}$  : volume de sédiment (5000 cm<sup>3</sup> pour une profondeur de 5 cm)
- $bd_{sed}$  : densité sèche de sédiment (0,8 g/cm<sup>3</sup>)

Une dégradation entre les applications est prise en compte si la substance n'est pas considérée comme stable.

Les concentrations des métabolites sont calculées comme pour la substance active, considérant des applications équivalentes au maximum retrouvé dans le sédiment lors des études en système eau-sédiment.

### 6.3.1 Paramètres considérés

Les paramètres du spinosad considérés pour le calcul des  $CPE_{sed}$  sont les suivants :

Tableau II.21 : Paramètres du spinosad utilisés pour le calcul des  $CPE_{sed}$

Substance active	Spinosad	
$CPE_{esu}$ , max	21,41	µg/L
Proportion Spinosyne A:D	86:14	
Masse molaire	732	g/mol
% max dans les sédiments	68,8	%
$DT_{50}$ dans les sédiments *	176	jours
Metabolite de spinosyne A	Spinosyne B	
$CPE_{esu}$ , max	1,18	µg/L
Masse molaire	717	g/mol
% max dans les sédiments	9	% du spinosyne A
% équivalent dans les sédiments	7,74	% du spinosad
$DT_{50}$ dans les sédiments	Stable	(non calculée)
Metabolite de spinosyne D	Spinosyne D N-deméthylé	
$CPE_{esu}$ , max	0,317	µg/L
Masse molaire	731	g/mol
% max dans les sédiments	10	% du spinosyne D
% équivalent dans les sédiments	1,4	% du spinosad
$DT_{50}$ dans les sédiments	Stable	(non calculée)
Application		
Dose d'application :	35	g s.a/ha
Nombre d'applications :	2	applications
Intervalle entre les applications :	7	jours

\*Aucune donnée n'est disponible pour la dissipation dans le sédiment, on considère donc la  $DT_{50}$  dans le système total. Ceci est possible car la  $DT_{50}$  du système total est significativement inférieure à la  $DT_{50}$  dans l'eau, et la substance active est retrouvée majoritairement dans le sédiment.

### 6.3.2 Résultats

Les  $CPE_{sed}$  du spinosad et de ses métabolites sont présentées dans le tableau suivant.

Tableau II.22 : Calculs des  $CPE_{sed}$  pour le spinosad

$CPE_{esu, 1 \text{ application}}$ :	11,67	$\mu\text{g/L}$
$CPE_{sed, 1 \text{ application}}$ :	60,20	$\mu\text{g/kg sédiment sec}$
$CPE_{sed, initial}$ :	118,76	$\mu\text{g/kg sédiment sec}$

$CPE_{sed}$	Jours après la dernière application	Concentration instantanée ( $\mu\text{g/kg de sédiment sec}$ )	Concentration pondérée par le temps ( $\mu\text{g/kg de sédiment sec}$ )
Initiale	0	118,8	118,8
Court terme	1	118,3	118,5
	2	117,8	118,3
	4	116,9	117,8
Long terme	7	115,5	117,1
	14	109,3	114,0
	21	106,4	112,5
	28	97,54	107,8
	42	80,10	98,17

Tableau II.23 : Calculs des  $CPE_{sed}$  pour le spinosyne B

$CPE_{esu, max, spinosyne B}$ :	1,18	$\mu\text{g/L}$
$CPE_{sed, initial}$ :	13,27	$\mu\text{g/kg sédiment sec}$

Tableau II.24: Calculs des  $CPE_{sed}$  pour le spinosyne D déméthylé

$CPE_{esu, max, spinosyne D \text{ déméthylé}}$ :	0,317	$\mu\text{g/L}$
$CPE_{sed, initial}$ :	2,45	$\mu\text{g/kg sédiment sec}$

## 6.4 VOIE ET VITESSE DE DEGRADATION DANS LE SOL

### 6.4.1 Méthode de calcul de $CPE_{local \text{ sol}}$

Les Concentrations Environnementales Prévisibles dans le sol ont été estimées selon le Document-Guide Technique (TGD, 2003). Trois types de  $CPE_{sol}$  ont ainsi été calculées :

- Ecosystème terrestre
- Cultures pour la consommation humaine
- Pâturage pour le bétail (bovins principalement)

Les concentrations instantanées ( $CPE_{sol,t}$ ) ainsi que les concentrations pondérées par le temps ( $CPE_{sol,mpt}$ ) ont été déterminées pour les 3 cas. En considérant que la substance se

dégrade dans le sol selon une cinétique du premier ordre, la relation entre  $CPE_{sol, instantanée}$  et  $CPE_{sol, initiale}$  après  $n$  applications ( $CPE_{ini, n}$ ) s'écrit :

$$CPE_{sol, t} = CPE_{ini, n} e^{(-kt)},$$

$k$  étant la constante de la vitesse de dégradation.

Les  $CPE_{sol}$  pondérées par le temps ( $CPE_{sol, mpt}$ ) sont obtenues par intégration de l'aire sous la courbe divisée par le nombre de jours considérés, selon la formule suivante :

$$CPE_{sol, twa} = CPE_{ini, n} \cdot \frac{DT_{50}}{t_i \cdot \ln(2)} (1 - e^{(-t_i \cdot \ln(2)/DT_{50})})$$

Avec :

$CPE_{ini, n}$  = CPE initiale dans le sol (mg/kg)

$DT_{50}$  = temps de demi-vie de la substance dans le sol (jours). Pour une cinétique du premier ordre,  $DT_{50} = \ln 2/k$

$t_i$  = période de temps considérée (jours)

Dans le cas d'applications multiples, la  $CPE_{sol, initiale}$  après la dernière application est calculée selon la formule :

$$CPE_{ini, n} = \frac{CPE_{ini, 1} (1 - e^{-nki})}{(1 - e^{-ki})}$$

Avec :

$CPE_{ini, n}$  = CPE initiale dans le sol (mg/kg) après  $n$  applications,

$CPE_{ini, 1}$  = CPE initiale dans le sol (mg/kg) après la première application,

$n$  = nombre d'applications

$i$  = intervalle entre les applications (jours),

$k$  = vitesse de dégradation de la substance active dans le sol ( $j^{-1}$ ).

Les  $PEC_{sol}$  des métabolites du spinosad sont calculées en considérant que la substance active atteignant le sol est partiellement et continuellement transformée en métabolites, lesquels se dégradent partiellement et continuellement. Par conséquent pour chaque jour suivant l'application du parent, la concentration d'un métabolite a été calculée, en prenant en compte la fraction de formation à partir du parent et la dégradation du métabolite lui-même, selon l'équation suivante :

$$\frac{dC_{metabolite}}{dt} = k_p \cdot ff_m \cdot C_{parent} - k_m \cdot C_{metabolite}$$

Etant donné qu'aucune donnée concernant les fractions de formation des métabolites n'est disponible, ces fractions sont calculées de manière itérative (en utilisant l'outil « solveur » de Microsoft Excel 2003) de manière à avoir une  $PEC_{max}$  correspondant au pourcentage maximum de métabolite observé dans les études.

#### 6.4.2 Paramètres considérés

Considérant l'usage larvicide du spinosad, le produit est appliqué par pulvérisation directe sur plan d'eau, ce qui peut entraîner la contamination des sols par dérive de la substance active. Le mode d'application est supposé générer une dérive maximale correspondant à 33,2 % de la dose appliquée (modèle AgDrift, STDF 1999). Ce coefficient de dérive est présenté dans les documents FOCUS relatifs aux eaux de surface (FOCUS, 2001).

Les CPE<sub>sol</sub> du spinosad ont été calculées en considérant le pire cas d'une dégradation lente (valeur maximum de DT<sub>50</sub>) et d'une dérive de pulvérisation de 33,2 % pour une application aérienne. Les résultats sont présentés dans le paragraphe suivant.

Tableau II.25 : Paramètres du spinosad considérés pour les calculs de CPE<sub>sol</sub>

Substance	Spinosad	Spinosyne B	Spinosyne D N-deméthylé
Valeur maximum de DT <sub>50</sub> (jours) dans le sol	63	194	531
% maximum de formation dans le sol	-	100 spinosyne A	87,4 spinosyne D
% équivalent de formation dans le sol	-	86	12,2
Masse molaire (g/mol)	732	717	731
Dose appliquée (g as/ha)	35		
Coefficient de dérive	33,2 %		
Dose effective appliquée (g as/ha)	11,62		

Pour les 3 types de CPE<sub>sol</sub> la densité du sol a été prise égale à 1,5 g/cm<sup>3</sup> (sol humide). Cette valeur usuelle est cohérente avec les sols présentés dans le paragraphe 6.2.2..

Tableau II.26 : Profondeurs de sol et périodes de pondération considérées pour chacune des 3 CPE<sub>local, sol</sub> calculées

	Profondeur du sol (m)	Période de pondération pour le calcul de CPE <sub>mpt</sub> (jours)	Type de CPE <sub>sol</sub>
CPE <sub>local, sol</sub>	0,20	30	Ecosystème terrestre
CPE <sub>local, agr, sol</sub>	0,20	180	Cultures pour la consommation humaine
CPE <sub>local, pâturage</sub>	0,10	180	Pâturage pour bétail

### 6.4.3 Résultats

Tableau II.27 : Résultats obtenus pour les trois types de CPE<sub>local, sol</sub> - spinosad

CPE (mg/kg de sol humide)	CPE initiale (CPE <sub>ini, 1</sub> )	CPE <sub>sol</sub> après la dernière application CPE <sub>ini, n</sub>	CPE <sub>sol</sub> pondérée CPE <sub>sol, mpt</sub>
CPE <sub>local, sol</sub>	0,004	0,007	0,006
CPE <sub>local, agr, sol</sub>	0,004	0,007	0,003

CPE <sub>local</sub> , pâturage	0,008	0,015	0,007
---------------------------------	-------	-------	-------

Tableau II.28 : Résultats obtenus pour les trois types de CPE<sub>local</sub> sol – spinosyne B

CPE (mg/kg de sol humide)	CPE max (CPE <sub>max</sub> )	CPE <sub>sol</sub> pondérée CPE <sub>sol,mpt</sub> après max
CPE <sub>local</sub> , sol	0,003	0,003
CPE <sub>local</sub> , agr, sol	0,003	0,003
CPE <sub>local</sub> , pâturage	0,007	0,006

Tableau II.29 : Résultats obtenus pour les trois types de CPE<sub>local</sub> sol – Spinosyne D N-deméthylé

CPE (mg/kg de sol humide)	CPE max (CPE <sub>max</sub> )	CPE <sub>sol</sub> pondérée CPE <sub>sol,mpt</sub> après max
CPE <sub>local</sub> , sol	0,001	0,001
CPE <sub>local</sub> , agr, sol	0,001	0,001
CPE <sub>local</sub> , pâturage	0,001	0,001

Tableau II.30 : Résultats détaillés de CPE<sub>local</sub> sol avec une profondeur de sol égale à 0,20 m - spinosad

CPE <sub>sol, 1application, ini</sub>	0,004	mg/kg
CPE <sub>sol, dernière application, ini</sub>	0,007	mg/kg

CPE <sub>local</sub> , sol	Jours après la dernière application	Concentration instantanée (mg/kg sol humide)	Concentration pondérée par le temps (mg/kg sol humide)
Initiale	0	0,007	0,007
Court terme	1	0,007	0,007
	2	0,007	0,007
	4	0,007	0,007
Long terme	7	0,007	0,007
	21	0,006	0,007
	30	0,005	0,006
	100	0,002	0,005
	180	0,001	0,003

Tableau II.31 : Résultats détaillés de  $CPE_{local\ sol}$  avec une profondeur de sol égale à 0,20 m – spinosyne B

$CPE_{sol, max}$ :		0,003	mg/kg
$CPE_{local, sol}$	Jours après la dernière application	Concentration instantanée (mg/kg sol humide)	Concentration pondérée par le temps (mg/kg sol humide)
Initiale	0	0,003	0,003
Court terme	1	0,003	0,003
	2	0,003	0,003
	4	0,003	0,003
Long terme	7	0,003	0,003
	21	0,003	0,003
	30	0,003	0,003
	100	0,003	0,003
	180	0,002	0,003

Tableau II.32 : Résultats détaillés de  $CPE_{local\ sol}$  avec une profondeur de sol égale à 0,20 m – Spinosyne D N-deméthylé

$CPE_{sol, max}$ :		0,001	mg/kg
$CPE_{local, sol}$	Jours après la dernière application	Concentration instantanée (mg/kg sol humide)	Concentration pondérée par le temps (mg/kg sol humide)
Initiale	0	0,001	0,001
Court terme	1	0,001	0,001
	2	0,001	0,001
	4	0,001	0,001
Long terme	7	0,001	0,001
	21	0,001	0,001
	30	0,001	0,001
	100	0,001	0,001
	180	0,001	0,001

Tableau II.33 : Résultats détaillés de  $CPE_{local\ sol}$  avec une profondeur de sol égale à 0,10 m – spinosad

$CPE_{sol, 1\ application, ini}^{\cdot}$	0,008	mg/kg
$CPE_{sol, dernière\ application, ini}^{\cdot}$	0,015	mg/kg

$CPE_{local, sol}$	Jours après la dernière application	Concentration instantanée (mg/kg sol humide)	Concentration pondérée par le temps (mg/kg sol humide)
Initiale	0	0,015	0,015
Court terme	1	0,015	0,015
	2	0,015	0,015
	4	0,014	0,015
Long terme	7	0,014	0,014
	21	0,012	0,013
	30	0,011	0,013
	100	0,005	0,009
	180	0,002	0,007

Tableau II.34 : Résultats détaillés de  $CPE_{local\ sol}$  avec une profondeur de sol égale à 0,10 m – spinosyne B

$CPE_{sol, max}^{\cdot}$	0,007	mg/kg
--------------------------	-------	-------

$CPE_{local, sol}$	Jours après la dernière application	Concentration instantanée (mg/kg sol humide)	Concentration pondérée par le temps (mg/kg sol humide)
Initiale	0	0,007	0,007
Court terme	1	0,007	0,007
	2	0,007	0,007
	4	0,007	0,007
Long terme	7	0,007	0,007
	21	0,007	0,007
	30	0,007	0,007
	100	0,006	0,006
	180	0,005	0,006

Tableau II.35 : Résultats détaillés de  $CPE_{local\ sol}$  avec une profondeur de sol égale à 0,10 m – Spinosyne D N-deméthylé

$CPE_{sol, max}$ :	0,001	mg/kg	
$CPE_{local, sol}$	Jours après la dernière application	Concentration instantanée (mg/kg sol humide)	Concentration pondérée par le temps (mg/kg sol humide)
Initiale	0	0,001	0,001
Court terme	1	0,001	0,001
	2	0,001	0,001
	4	0,001	0,001
Long terme	7	0,001	0,001
	21	0,001	0,001
	30	0,001	0,001
	100	0,001	0,001
	180	< 0,001	0,001

## 6.5 DEVENIR EN MILIEU MARIN ET ESTUARIEN

Aucune donnée n'est disponible concernant la contamination des milieux marins par le spinosad. Cependant, à la demande de la Préfecture de la Réunion, la Direction Régionale de l'Environnement (DIREN) de la Réunion a lancé dès le mois de février 2006 une opération d'évaluation de la contamination potentielle du milieu marin par les biocides utilisés dans le cadre de la lutte contre le Chikungunya. Cette étude a pour objet la réalisation de campagnes d'échantillonnage d'eau de mer, de sédiments et d'organismes aquatiques marins et estuariens en vue de réaliser des analyses des niveaux de contamination par les biocides (DIREN Réunion, 2006b).

Deux campagnes d'échantillonnages ont été réalisées au cours du premier semestre 2006. La première campagne après une première tempête ayant générée une pluviométrie très abondante sur la Réunion. Le premier lessivage de la saison a ainsi pu être pris en compte. La seconde campagne a été réalisée dans une période globalement peu pluvieuse. En raison de la saturation relativement importante des sols suite à un hiver pluvieux, les transferts vers le milieu marin ont néanmoins pu être rapides.

De l'eau, du sédiment et des matrices biologiques (oursins, bivalves, poissons marins et poissons d'eau douce) ont été prélevés dans différents sites.

Les résultats des analyses réalisées sur quatre échantillons d'eau brute n'ont permis de détecter aucune des molécules recherchées (téméphos, fénitrothion, deltaméthrine).

Il convient toutefois de noter qu'il s'agit là d'un échantillonnage extrêmement léger, réalisé afin d'évaluer l'intérêt de la mise en œuvre d'une seconde campagne plus importante. Considérant l'absence de traces des molécules recherchées, en dépit d'un lessivage potentiellement important en raison des pluies très abondantes qui ont précédé les prélèvements, il a été décidé de ne pas relancer d'échantillonnage d'eau de mer et de concentrer les efforts sur les matrices animales et sédimentaires.

On constate également que les trois molécules ayant fait l'objet d'une utilisation dans la LAV n'ont pas été détectées dans les sédiments marins analysés.

Pour les matrices animales, le premier constat est l'absence d'observation du téméphos et du fénitrothion sur l'ensemble des sites. Ces molécules ne semblent donc pas avoir été accumulées dans les animaux marins. La deltaméthrine a été observée à l'état de trace dans des oursins de la Baie de St Paul lors de la seconde campagne d'échantillonnage. Il s'agit du seul résultat positif observé pour cette molécule sur les 23 échantillons prélevés en milieu marin et estuarien. La quasi-absence de cette molécule dans les organismes aquatiques est conforme à la bibliographie qui indique une rapide métabolisation lors de son ingestion par des organismes vivants.

Cette première phase d'évaluation des effets directs potentiels de la lutte antivectorielle contre le Chikungunya en matière de contamination des milieux et des organismes aquatiques met en évidence une quasi absence de traces de contamination par les molécules utilisées. Il est tout de même important de noter que ces résultats doivent être considérés avec une grande prudence compte tenu de l'échantillonnage limité qui a pu être mis en place en fonction des moyens disponibles et de la durée limitée de cette étude.

Le téméphos était le seul larvicide étudié au cours de ces campagnes. En tant que larvicide, il est directement appliqué sur l'eau comme les produits à base de spinosad.

Le calcul des concentrations prévues dans l'environnement en fonction des doses d'application recommandées du téméphos et du spinosad laisse prévoir que le téméphos se retrouvera en concentrations plus élevées dans les eaux de surfaces et dans les sédiments que le spinosad. En effet, la  $DT_{50}$  du téméphos est plus faible que celle du spinosad, mais ce dernier est appliqué à moins forte dose.

Ces résultats lorsqu'ils seront complétés pourront être ainsi être extrapolés à des molécules comme le spinosad et justifient l'approche maximaliste d'étude par compartiment environnemental.

## 7 CONCLUSION

Le spinosad est un mélange de spinosyne A et de spinosyne D, dans des proportions spinosynes A:D comprises entre 50:50 et 95:5

Le spinosad technique utilisé pour les études de toxicité 771 g/kg de spinosyne A et 122 g/kg de spinosyne D, ce qui est considéré comme une répartition typique pour le spinosad. Ceci équivaut à un ratio A :D de 86 :14 qui a été utilisé pour l'évaluation du risque environnement.

Le spinosad est un produit peu soluble dans l'eau, stable en phase aqueuse, non volatile qui montre un potentiel de bioaccumulation élevé, est très fortement adsorbé sur les particules du sol ou des sédiments. Ainsi une attention particulière doit être portée sur la phase sédimentaire.

En conditions abiotiques, la dégradation dans l'environnement sera d'origine photochimique (demi-vie comprise entre 0,84 et 0,96 jours). En conditions biotiques, le spinosad est dégradé rapidement dans le sol, avec des  $DT_{50}$  de 11 à 42 jours, pour le spinosyne A et 16 à 63 jours pour le spinosyne D (données laboratoire (AFSSA, 2006)). Etant données ces dissipations rapides dans le sol ( $DT_{90} < 1$  an) aucun risque d'accumulation dans le sol n'est à prévoir.

La photolyse est la voie de dégradation principale du spinosad dans l'eau. Les spinosyne A et spinosyne D sont très rapidement dégradés par photolyse. Les temps de demi-vie en solution aqueuse tamponnée diluée (pH 7, 25°C) sont respectivement de 0,96 et 0,84 jour pour le spinosyne A et le spinosyne D, sous lumière naturelle d'été.

Inversement, les spinosyne A et spinosyne D sont résistants à l'hydrolyse dans des solutions aqueuses tamponnées et stériles à 25°C. Aucune hydrolyse n'a été détectée à pH 5 pour les deux substances. Pour le spinosyne A, les temps de demi-vie sont de 648 et 200 jours à pH 7 et 9 respectivement. Pour le spinosyne D, il n'y a pas d'hydrolyse observée à pH 7, et le temps de demi-vie est de 259 jours à pH 9.

La dissipation du spinosad en systèmes eau/sédiment en conditions aérobies de laboratoire est rapide dans la phase aqueuse ( $DT_{50}$  entre 14 et 27 jours) et plus lente dans le système total ( $DT_{50}$  entre 103 et 176 jours). Les maximums retrouvés dans les sédiments sont de 68,8 % pour le spinosyne A et de 61,7 % pour le spinosyne D. Les métabolites formés sont le spinosyne B (à partir du spinosyne A, maximum 9 % dans le sédiment) et le spinosyne D N-déméthylé (à partir du spinosyne D, maximum 10 % dans le sédiment). Cette dissipation est nettement accélérée en condition naturelle de plein champ.

En conditions anaérobies de laboratoire est rapide dans la phase eau ( $DT_{50} < 7$  jours) et lente dans le système total ( $DT_{50}$  entre 239 et 443 jours). Les maximums retrouvés dans les sédiments sont de 76 % pour le spinosyne A et de 74% pour le spinosyne D.

Le mode d'application considéré est une application par pulvérisation directe de spinosad sur plans d'eau et autres milieux aquatiques territoriaux. On a estimé que la percolation vers les nappes phréatiques est improbable dans les conditions normales d'utilisation, compte tenu des conditions locales pédoclimatiques et de la valeur élevée du Koc. Le risque de contamination des eaux utilisées pour l'eau potable est donc lui aussi improbable.

Les concentrations prévisibles dans l'environnement, instantanées et moyennées ont été calculées, considérant 2 applications sur l'eau de 35g/ha avec 7 jours d'intervalle. La répartition spinosyne A et spinosyne D est 86:14. La dérive de pulvérisation aérienne est considérée de 33,2 %.

Les résultats sont présentés ci-dessous :

*Tableau II.36 : Bilan des Concentrations prévisibles dans l'environnement du spinosad*

<b>Spinosad</b>	CPE initiale	CPE max	CPE mpt	Unités
Eaux de surface	11,667	21,414	13,104 (42 jours)	µg/L
Sédiment	60,200	118,763	98,168(42 jours)	µg/kg sédiment sec
Sol	0,004	0,007	0,006 (30 jours)	mg/kg sol humide
Sol, agriculture	0,004	0,007	0,003 (180 jours)	mg/kg sol humide
Sol, pâturage	0,008	0,015	0,007 (180 jours)	mg/kg sol humide

---

## LISTE DES REFERENCES

**Partie I:** Liste des revues issues des organismes officiels et utilisées pour la constitution de ce document :

- AFSSA (2006) Base de données Agritox
- Agence de Réglementation de la lutte anti-parasitaire (ARLA) (2001) Spinosad - Insecticide SUCCESS® 480SC Naturalyte - Insecticide CONSERVE® 480SC Naturalyte.
- IPCS-INCHEM-ICSC 1502 (2004) Date de revue : Avril 2004
- WHO (2005) Who specifications et evaluations for public health pesticides – SPINOSAD, WHO Report 636/2005

**Partie II:** liste des autres références citées dans ce document

- Bernard H. et al. (2005) Organic Compounds in the Environment. Journal of Environmental Quality, 34:534-543
- DIREN Réunion (2006a) Présentation des résultats du réseau d'alerte, volet : "Surveillance des eaux douces", version finale, juin 2006
- DIREN Réunion (2006b) Suivi environnemental de l'impact potentiel de la lutte antivectorielle mise en oeuvre contre le Chikungunya. Evaluation de la qualité de l'eau, des sédiments et de la contamination d'organismes aquatiques en milieux marin et estuarien. Lionel Gardes, 28 juin 2006
- FOCUS (2000). "FOCUS groundwater scenarios in the EU review of active substances" Rapport du groupe de travail FOCUS sur les Eaux Souterraines, Document EC Référence Sanco/321/2000 rev.2, 202pp (mis à jour en 2002)
- FOCUS (2001). "FOCUS Surface Water Scenarios in the EU Evaluation Process under 91/414/EEC". Rapport du groupe de travail FOCUS sur les Scénarios Eaux de Surface, Document EC Référence SANCO/4802/2001-rev.2. 245 pp
- FOCUS (2005). « Pesticides in Air : Considerations for Exposure Assessment ». Rapport du groupe de travail FOCUS sur les Pesticides dans l'air, Document EC SANCO (draft, 218 pp)
- Gustafson (1991) Groundwater ubiquity score: A simple method for assessing pesticide leachability. Environ. Sci. Technol. 8:339–357.
- IRD (2006) Insecticides larvicides et adulticides disponibles pour les opérations de lutte contre les moustiques - Synthèse bibliographique (Frédéric Darriet, Sébastien Marcombe et Vincent Corbel)
- SSM (2004). Evaluation du risque environnemental des produits phytopharmaceutiques. Révision 6-5, octobre 2004. Commission d'étude de la toxicité des produits antiparasitaires à usage agricole et des produits assimilés des matières fertilisantes et des supports de culture
- TGD (2003) Technical guidance document in support of commission directive 93/67/EEC on risk assessment for new notified substance and commission regulation (EC) N° 1488/94 on risk assessment for existing sub stance (TGD). Part II. Chapter 3. European Commission. EUR 20418 EN/2



CEHTRA  
43 rue Laroque  
33560 Sainte Eulalie  
France

Tel (33) 5 57 77 56 10  
Fax (33) 5 57 77 56 20  
[www.cehtra.fr](http://www.cehtra.fr)

# **SPINOSAD**

## **III-Evaluation du risque écotoxicologique**

**DATE**

**Juillet 2007**

---

## TABLE DES MATIERES

<b>1. Introduction .....</b>	<b>461</b>
Informations sur la préparation .....	461
Données sur l'application .....	461
<b>2. Effets sur les organismes aquatiques.....</b>	<b>462</b>
2.1. Toxicité du spinosad sur les organismes aquatiques.....	462
2.1.1. Données de laboratoire	462
2.2. Evaluation du risque pour les organismes aquatiques.....	464
2.3. Impact sur le milieu marin et estuarien.....	467
<b>3. Impact sur les animaux terrestres non cibles.....</b>	<b>470</b>
3.1. Effets sur les oiseaux et les mammifères.....	470
3.1.1. Toxicité sur les oiseaux	470
3.1.2. Toxicité sur les mammifères	471
3.1.3. Risque pour les organismes consommant l'eau traitée	471
3.1.4. Risque pour les oiseaux et mammifères se nourrissant de poissons	472
3.1.5. Risques pour les consommateurs se nourrissant de poissons	473
3.1.6. Oiseaux et mammifères se nourrissant dans les zones adjacentes	474
3.1.7. Risque pour les animaux se nourrissant de vers de terre dans les zones adjacentes	480
3.2. Effets sur les abeilles .....	481
3.3. effets sur Organismes non cibles du sol.....	484
3.3.1. Approche par le calcul de RTE	484
3.3.2. Approche par la détermination d'une CPSE <sub>sol</sub>	485
<b>4. Conclusion generale .....</b>	<b>487</b>

---

## 1 INTRODUCTION

Les données présentées dans cette évaluation de la toxicité du spinosad sur les organismes aquatiques et terrestres sont issues des évaluations faites par différents organismes réglementaires nationaux (AFSSA) et étrangers (OMS, Agence de réglementation de la lutte antiparasitaire canadienne (ARLA)). Les documents de revue préalablement rédigés par ces organismes officiels sont référencés en partie I de la liste des références. Les rapports d'étude cités dans ces revues n'ont pas été accessibles et n'ont donc pas été revus par le rédacteur de ce document.

Pour chaque niveau trophique et compartiment environnemental pertinent, ces données de toxicité sont ensuite comparées avec les valeurs de concentration prédites dans l'environnement telles qu'elles ont été dérivées dans la section environnementale afin de caractériser le risque écotoxicologique.

La grande majorité des informations utilisées pour dériver les profils toxicologiques et écotoxicologiques du spinosad a été obtenue à partir d'essais conduits avec un produit technique contenant les spinosyne A et spinosyne D, à 771 g/kg et à 122 g/kg, respectivement. Cette composition étant considérée comme typique pour le spinosad, les évaluations ont été effectuées à partir de ce spinosad représentatif du matériel délivré dans l'environnement, plutôt que de manière individuelle pour chaque composant de la substance active.

La dérive de pulvérisation étant par défaut estimée à la valeur maximale de 33,2 %, une dose non négligeable peut atteindre le sol dans les zones adjacentes aux zones traitées. Comme indiqué dans la section environnement de ce document, deux métabolites majeurs sont formés dans le sol : le spinosyne B et le Spinosyne D N-deméthylé, avec des fractions de formation respectives de 76 % et 12 %.

En l'absence de données d'écotoxicité pertinentes sur la préparation et ses co-formulants, l'évaluation du risque est essentiellement basée sur les données de toxicité de la substance active, tout en étant adaptée aux conditions d'application de la préparation susceptible d'être utilisée sur l'Île de la Réunion dans le cadre de la lutte antivectorielle (LAV).

---

### 1.2 INFORMATIONS SUR LA PREPARATION

Nom de la préparation	SUCCESS® 4
Type de préparation:	Suspension concentrée (code GIFAP : SC)
Substance active et concentration:	Spinosad : 480 g/L
Fonction:	Bio-insecticide (larvicide)

---

### 1.3 DONNEES SUR L'APPLICATION

Dose d'application:	35 g s.a./ha
Nombre d'application:	Deux par an avec un intervalle 7 jours entre les 2 applications

## 2 EFFETS SUR LES ORGANISMES AQUATIQUES

### 2.1 TOXICITE DU SPINOSAD SUR LES ORGANISMES AQUATIQUES

La toxicité du spinosad a été évaluée sur diverses espèces aquatiques.

La toxicité du spinosad sur les daphnies est de l'ordre de quelques mg/L. La toxicité chronique est élevée avec une CSEO (Concentration sans effet observé) de 0,001 2 mg/L. Comme le composé est une substance active bio-insecticide et est utilisé contre les stades larvaires aquatiques des moustiques, des simulis et des moucherons, la nature toxique envers les invertébrés aquatiques n'est pas surprenante. La toxicité chronique est aussi importante sur les organismes du sédiment avec une CSEO de 0,001 6 mg/L pour *Chironomus riparius*.

La toxicité est élevée sur d'autres espèces, comme l'huître avec une CE<sub>50</sub> (Concentration entraînant des effets sur 50 % des individus) de 0,32 mg/L. La toxicité sur les microalgues est variable selon les espèces, les CE<sub>50</sub> obtenues varient de 0,079 mg/L pour la *Navicula pelliculosa* à 56 mg/L pour *Selenastrum capricornutum*

Le spinosad est modérément toxique sur les poissons avec des CL<sub>50</sub> (Concentration létale pour 50 % des individus) variant de 4 mg/L pour la carpe miroir jusqu'à 27 mg/L pour la truite arc-en-ciel.

Les données de log Pow du spinosad suggèrent un potentiel de bioaccumulation. Cependant, les données expérimentales sur la bioaccumulation des spinosynes A et D ne confirment pas ce potentiel. Les facteurs de bioconcentration FBC varient de 6 à 114 pour le spinosyne A et de 40 à 130 pour le spinosyne D.

#### 2.1.1 Données de laboratoire

Tableau III.1 : Données de toxicité aiguë et chronique du spinosad technique sur les organismes aquatiques

Espèce	Conditions du test	CL/CE <sub>50</sub> /CSEO (mg s.a./L)	Référence
<b>Poisson</b>			
Truite arc-en-ciel <i>Onchorhynchus mykiss</i>	Statique, 96 h, EPA 72-1 & OCDE 203, 12,5°C TAI*	CL <sub>50</sub> = 27 <sup>a</sup>	WHO (2005)
Vairon à tête de mouton <i>Cyprinodon variegatus</i>	Semi-statique, 96 h	CL <sub>50</sub> = 7,6 <sup>a</sup>	AFSSA (2006)
Carpe miroir <i>Cyprinus carpio</i>	Dynamique, 96 h, EPA 72-1 & OCDE 203, 24,5-25,5°C, TAI*	CL <sub>50</sub> = 4 <sup>a</sup>	WHO (2005)
Carpe miroir <i>Cyprinus carpio</i>	Statique, 96 h	CL <sub>50</sub> = 6,5 <sup>a</sup>	AFSSA (2006)

Espèce	Conditions du test	CL/CE <sub>50</sub> /CSEO (mg s.a./L)	Référence
Crapet arlequin <i>Lepomis macrochirus</i>	Statique, 96 h, EPA 72-1 & OCDE 203, 21-22, 1°C TAI*	CL <sub>50</sub> = 5,94	WHO (2005)
Truite arc-en-ciel <i>Onchorhynchus mykiss</i>	ELS, Dynamique, 80 j, EPA 724 (a) & OCDE 210, 12°C, TAI*	CSEO = 0,5	WHO (2005)
Truite arc-en-ciel <i>Onchorhynchus mykiss</i>	21 jours	CSEO = 4,3	AFSSA (2006)
Vairon à tête de mouton <i>Cyprinodon variegatus</i>	35 jours	CSEO = 1,2	AFSSA (2006)
Truite arc-en-ciel <i>Onchorhynchus mykiss</i>	Spynosine A	FBC = 114	AFSSA (2006)
Truite arc-en-ciel <i>Onchorhynchus mykiss</i>	Spynosine D	FBC = 115	AFSSA (2006)
Truite arc-en-ciel <i>Onchorhynchus mykiss</i>	Spynosine A	FBC <sub>Poisson</sub> = 19 FBC <sub>Muscle</sub> = 6 FBC <sub>Viscères</sub> = 19	ARLA (2001)
Truite arc-en-ciel <i>Onchorhynchus mykiss</i>	Spynosine D	FBC <sub>Poisson</sub> = 110 FBC <sub>Muscle</sub> = 40 FBC <sub>Viscères</sub> = 130	ARLA (2001)
<b>Invertébrés</b>			
<i>Daphnia magna</i>	Statique, 48 h, EPA 72-2 & OCDE 202 (1), 20°C TAI*	CE <sub>50</sub> > 1,0	WHO (2005)
<i>Daphnia magna</i>	Semi-statique, 48 h	CE <sub>50</sub> = 7,4	AFSSA (2006)
<i>Daphnia magna</i>	Semi-statique, 48 h	CE <sub>50</sub> = 12	AFSSA (2006)
Huître <i>Crassostrea virginica</i>	Dynamique, 96 h	CE <sub>50</sub> = 0,32	AFSSA (2006)
Crevette <i>Palaemonetes pugio</i>	Semi-statique, 96 h	CE <sub>50</sub> > 12	AFSSA (2006)
<i>Daphnia magna</i>	21 j, EPA 72-4 & OCDE 202 (2), 20°C TAI*	Dynamique : CSEO = 0,001 2 Semi-statique : CSEO = 0,008 0	WHO (2005)
<i>Daphnia magna</i>	21 j, dynamique	CSEO = 0,001 7	AFSSA (2006)
<i>Mysidopsis bahia</i>	Dynamique, 28 jours	CSEO = 0,10	AFSSA (2006)
<b>Algue</b>			
<i>Selenastrum capricornutum</i>	Statique, 96 h	CE <sub>50</sub> = 4	AFSSA (2006)

Espèce	Conditions du test	CL/CE <sub>50</sub> /CSEO (mg s.a./L)	Référence
<i>Skeletonema costatum</i>	Statique, 120 h	CE <sub>50</sub> = 0,17	AFSSA (2006)
<i>Navicula pelliculosa</i>	Statique, 120 h, EPA 123-2 & OCDE 201, 22°C, TAI*	CE <sub>50</sub> = 0,079	WHO (2005)
<i>Anabaena flosaquae</i>	Statique, 120 h, EPA 123-2 & OCDE 201, 24°C, TAI*	CE <sub>50</sub> = 6,1	WHO (2005)
<i>Selenastrum capricornutum</i>	Statique, 72 h, EPA 123-2 & OCDE 201, 24°C, TAI*	CE <sub>50</sub> = 56	WHO (2005)
<b>Plante aquatique</b>			
<i>Lemna gibba</i>	Statique, 14 j, EPA 123-2 & OCDE 221, 25.3°C, TAI*	CE <sub>50</sub> = 6,6	WHO (2005)
<b>Organismes vivant dans le sédiment</b>			
<i>Chironomus riparius</i>	25 j, OCDE 219, 20°C, TAI*	CSEO = 0,001 6	WHO (2005)

\* Technical Active Ingredient. Le spinosad technique utilisé dans ces études de toxicité contient 771 g/kg A et 122 g/kg D, ce qui est considéré comme typique du spinosad, en termes de rapport de spinosynés A et D

NB : Les données de concentration sont indiquées telles qu'elles sont rapportées dans les revues rédigés par ces organismes officiels sans qu'il ne soit indiqué s'il s'agit de valeurs nominales ou mesurées

Tableau III.2 : Données de toxicité aiguë et chronique d'une préparation à base de spinosad (formulants non connus) sur les organismes aquatiques

Espèce	Conditions du test	CL/CE <sub>50</sub> (mg s.a./L)	Référence
<b>Poisson</b>			
<i>Cyprinus carpio</i>	Formulation 480 SC, statique, 96 h, OCDE 203, 22°C	CL <sub>50</sub> > 49	WHO (2005)
<b>Invertébrés</b>			
<i>Daphnia magna</i>	Formulation 480 SC, statique, 48 h, OCDE 202, 20°C	CE <sub>50</sub> = 9,1	WHO (2005)
<b>Algue</b>			
<i>Navicula pelliculosa</i>	Formulation 480 SC, statique, 120 h, OCDE 201, 22°C	CE <sub>50</sub> = 0,35	WHO (2005)

NB : Les données de concentration sont indiquées telles qu'elles sont rapportées dans les revues rédigés par ces organismes officiels sans qu'il ne soit indiqué s'il s'agit de valeurs nominales ou mesurées

## 2.2 EVALUATION DU RISQUE POUR LES ORGANISMES AQUATIQUES

L'évaluation de risques est basée sur le calcul des CPSE (Concentration prévisible sans effet). Pour suivre l'approche décrite dans le TGD (2003), la CPSE est la concentration au-dessous de laquelle aucun effet n'est prévu. La CPSE est établie à partir des données de toxicité de la substance active et de la préparation, affectées de facteurs de sécurité appropriés donnés dans le TGD.

La CPSE désigne une concentration pour laquelle il n'est pas attendu d'effet sur l'ensemble des organismes aquatiques. La CPSE de référence est la valeur jugée la plus appropriée dans le cadre de l'évaluation de risque : celle qui permet de couvrir la plus grande quantité d'espèces.

### Evaluation initiale du risque

#### - Parent

Selon les recommandations du TGD, un facteur de 10 s'applique lorsque des CSEO issues d'essais long terme sont validées pour au moins trois niveaux trophiques différents. La CSEO la plus basse sert à dériver la CPSE aquatique. Cependant, le facteur 10 n'est appliqué à la CSEO la plus faible que si celle-ci correspond à une espèce pouvant être considérée comme représentative du maillon le plus sensible de l'écosystème.

Concernant la toxicité du spinosad, des données de toxicité chronique sont disponibles pour deux niveaux trophiques différents (poisson, invertébré).

Cependant, la CPSE du spinosad a été étudiée par la Commission d'étude de la toxicité des produits antiparasitaires à usage agricole. Par décision du 20/01/04, la CPSE du spinosad est définie à 0,17 µg/L. Elle est basée sur le résultat de l'étude chronique sur daphnie (CSEO de 0,001 7 mg/L), assortie d'un facteur de sécurité de 10.

$$CPSE_{\text{spinosad}} = 0,17 \mu\text{g/L}$$

Or la concentration prévisible dans les eaux de surface calculée préalablement dans la section environnementale de cette évaluation, en considérant l'application d'une formulation à base de spinosad en suspension concentrée aux doses recommandées, est de :

$$CPE_{\text{esu, initiale}} = 21,4 \mu\text{g/L}$$

Le rapport CPE (Concentration prévisible dans l'environnement)/CPSE calculé dans ces conditions très conservatrices amènerait à une préoccupation importante pour les organismes aquatiques particulièrement dans les conditions proposées d'utilisation.

Les invertébrés aquatiques sont considérés comme les espèces les plus sensibles, à l'exception des larves des insectes, et le risque lié à l'utilisation de spinosad existe pour ces populations.

#### - Métabolites

La spynosyne B et le spynosyne D déméthylée sont les deux métabolites du spinosad, susceptibles de se former dans l'eau à hauteur de 6 et 9.3 %, respectivement.

En l'absence de données écotoxicologiques sur les métabolites, les recommandations de la DG SANCO à travers le document SANCO/3268/2001 (EC, 2002a) sont d'utiliser le endpoint le plus faible sanctionné par un facteur 10.

En suivant ces recommandations, la valeur de toxicité retenue est la suivante :

$$CESO (\text{Daphnie}, 21 \text{ jours}) = 0,001 2 \text{ mg/L}$$

Les concentrations prévisibles pour les métabolites sont les suivantes :

$$CPE_{\text{esu, max, spinosyn B}} : 1,179 \mu\text{g/L}$$

$CPE_{\text{esu, max, spinosyne D déméthylé}} : 0,317 \mu\text{g/L}$

Le Ratio Toxicité Exposition (RTE) est de :

$$\text{RTE} = 0,12 / 1,179 = 0,10$$

La valeur de RTE obtenue est inférieure au seuil de 5 recommandé dans l'Annexe VI de la directive 91/414/CEE.

Un risque pour les organismes aquatiques lié à l'application d'un produit contenant du spinosad ne peut donc être écarté.

## Evaluation affinée

### c. Calculs des rapports CPE/CPSE par espèce aquatique

La toxicité du spinosad varie considérablement d'une espèce à une autre. Elle est de l'ordre du  $\mu\text{g/L}$  pour une exposition chronique sur les daphnies, les espèces sédimentaires et les diatomées. Elle est de l'ordre du  $\text{mg/L}$  pour les poissons (aiguë et chronique) les daphnies en exposition aiguë, les microalgues et les plantes aquatiques. C'est pourquoi une évaluation prenant en compte la toxicité individuelle de chaque type d'organisme est réalisée, en calculant des TER pour chaque niveau trophique.

Tableau III.3 : Calcul de rapport CPE/CPSE spécifique pour chaque organisme et durée d'exposition

Organisme/exposition	CPSE ( $\mu\text{g/L}$ )	CPE ( $\mu\text{g/L}$ )	CPE/CPSE
Poisson /aiguë	40	21,4	< 1
Poisson /chronique	50	15,2 (mpt*, 28j)	< 1
Daphnie /aiguë	74	21,4	< 1
Daphnie/ chronique	0,12	16,5 (mpt*, 21 j)	> 1
Huître/ aiguë	3,2	21,4	> 1
Algue verte/ chronique	400	21,4	< 1
Diatomée/ chronique	7,9	21,4	> 1
Plante aquatique/chronique	660	17,9 (mpt*, 14 j)	< 1
Organismes sédimentaires/chronique	0,1	16,5 (mpt*, 21 j)	> 1

\* moyenne pondérée par le temps

## Conclusion

Les informations actuelles ne permettent pas de conclure à un risque acceptable pour les organismes aquatiques, en particulier pour les producteurs primaires, les invertébrés et les organismes vivant dans les sédiments.

Des données plus précises seraient nécessaires afin de connaître les conditions de récupération du système après traitement avec la préparation.

Par exemple, des études en conditions plus réalistes, de type microcosme ou mésocosme, permettraient d'évaluer la vitesse de récupération du système et d'observer si les effets peuvent être considérés comme transitoires.

D'autre part, des données de toxicité des métabolites sont aussi nécessaires pour effectuer une évaluation complète du risque.

---

## 2.3 IMPACT SUR LE MILIEU MARIN ET ESTUARIEN

---

Aucune donnée n'est disponible concernant la contamination des milieux marins par le spinosad.

Cependant, à la demande de la Préfecture de la Réunion, la Direction Régionale de l'Environnement (DIREN) de la Réunion a lancé dès le mois de février 2006 une opération d'évaluation de la contamination potentielle du milieu marin et estuarien par les biocides utilisés dans le cadre de la lutte contre le Chikungunya. Cette étude (DIREN, 2006a) a pour objet la réalisation de campagnes d'échantillonnage d'eau de mer, de sédiments et d'organismes aquatiques marins et estuariens en vue de réaliser des analyses des niveaux de contamination par les biocides.

Deux campagnes d'échantillonnages ont été réalisées au cours du premier semestre 2006. La première campagne (C1) a été réalisée les 21 et 22 février après la première tempête ayant généré une pluviométrie très abondante sur la Réunion. Le premier lessivage de la saison a ainsi pu être pris en compte.

La seconde campagne (C2) a été réalisée du 26 au 28 avril dans une période globalement peu pluvieuse. En raison de la saturation relativement importante des sols suite à un hiver pluvieux, les transferts vers le milieu marin ont néanmoins pu être rapide.

Des échantillons d'eau, de sédiment et de matrices biologiques (oursins, bivalves, poissons marins et poissons d'eau douce) ont été prélevés dans différents sites. Les protocoles d'échantillonnage et les conditions analytiques sont détaillés dans le rapport d'étude.

Les analyses d'eau et de sédiments ont été faites pour 3 insecticides impliqués dans la lutte antivectorielle (LAV) : téméphos, fénitrothion, deltaméthrine.

Pour les matrices animales uniquement, il a par ailleurs été décidé d'étendre les recherches à l'ensemble des molécules appartenant aux groupes analytiques de trois des molécules définies.

Seuls les résultats concernant les 3 insecticides impliqués dans la LAV sont reportés ci-dessous.

Les sites de prélèvement en milieu marin ont été fixés dans les zones d'influence du panache des rivières prioritaires. La sélection a été réalisée en fonction de la densité de zones ayant fait l'objet de traitements par bassin versant entre le 10 mars et le 13 avril (soit après les épisodes pluvieux exceptionnels de l'été).

Les résultats des analyses réalisées sur quatre échantillons d'eau brute n'ont permis de détecter aucune des molécules recherchées (téméphos, fénitrothion, deltaméthrine).

Il convient toutefois de noter qu'il s'agit là d'un échantillonnage extrêmement léger, réalisé afin d'évaluer l'intérêt de la mise en oeuvre d'une seconde campagne plus importante. Considérant l'absence de traces des molécules recherchées, en dépit d'un lessivage potentiellement important en raison des pluies très abondantes qui ont précédé les prélèvements, il a été décidé de ne pas relancer d'échantillonnage d'eau de mer et de concentrer les efforts sur les matrices animales et sédimentaires.

On constate également que les trois molécules ayant fait l'objet d'une utilisation dans la LAV n'ont pas été détectées dans les sédiments marins analysés (10 échantillons).

Pour les matrices animales, le premier constat est l'absence d'observation du téméphos et du fénitrothion sur l'ensemble des sites. Ces molécules ne semblent donc pas avoir été accumulées dans les animaux marins. La deltaméthrine a été observée à l'état de trace dans des oursins de la Baie de St Paul lors de la seconde campagne d'échantillonnage. Il s'agit du seul résultat positif observé pour cette molécule sur les 23 échantillons prélevés en

milieux marin et estuarien. Il est important de noter que la quantité mesurée est juste au dessus du seuil de détection (10 µg/kg). Cette suspicion de présence de deltaméthrine n'a toutefois pas pu être totalement confirmée car il a été impossible de vérifier ce résultat en le croisant avec une analyse au spectromètre de masse, dont le seuil de détection est de 20 µg/kg.

La quasi-absence de cette molécule dans les organismes aquatiques est conforme à la bibliographie qui indique une rapide métabolisation lors de son ingestion par des organismes vivants.

Afin de mettre en relation les résultats des analyses de contamination des organismes aquatiques avec l'intensité des traitements de LAV, une synthèse des données disponibles a été réalisée à l'échelle des bassins versants situés en amont des zones d'étude. Ces bassins versants ont été subdivisés selon une typologie composée de trois zones distinctes :

- la partie aval (« Littoral ») = jusqu'à une distance arbitraire de 1 km du trait de côte
- la partie intermédiaire (« Bas des pentes ») = jusqu'à une altitude de 200 m
- la partie supérieure (« Amont ») = au dessus de 200 m d'altitude

Pour chacune de ces zones, nous avons pu calculer le pourcentage de ce territoire ayant fait l'objet d'une LAV coordonnée la Préfecture.

Quatre périodes ont été considérées :

- Période 1 : depuis début décembre 2005 jusqu'au 17 février 2006 (correspondant à la tempête n°9 et au premier échantillonnage)
- Période 2 : du 18/02 au 04/03 (Tempête Diwa)
- Période 3 : du 05/03 au 25/04 (second échantillonnage)
- Période 4 : du 25/04 au 15/05

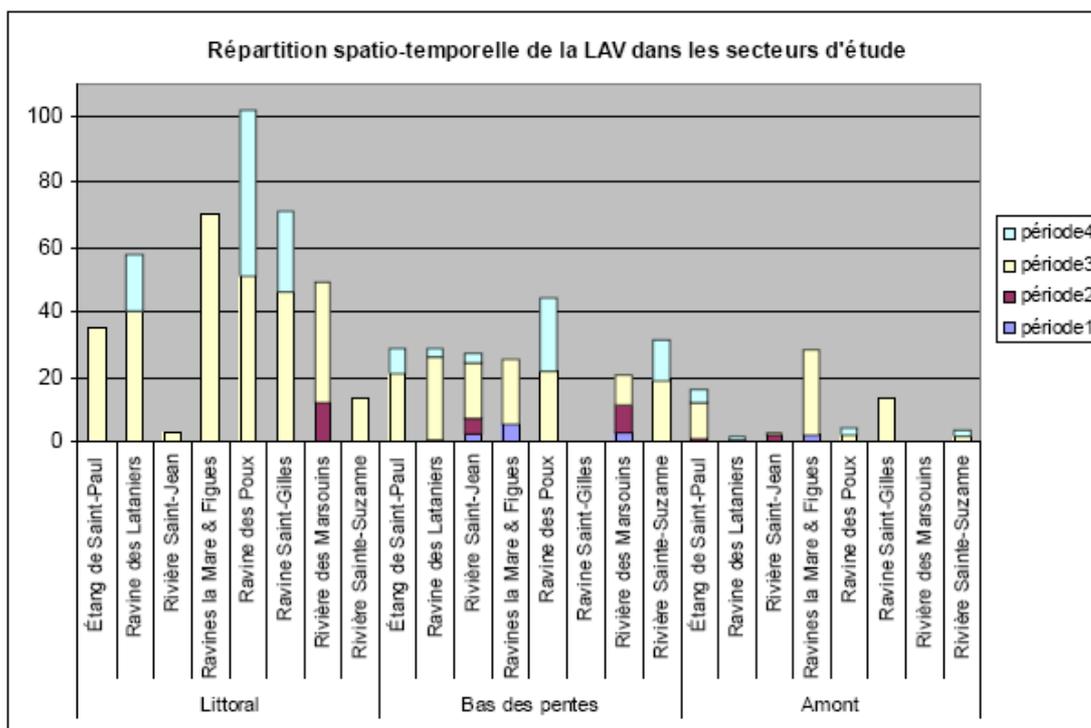


Figure III.1 : répartition des traitements réalisés dans les bassins versants étudiés (légende : Littoral = jusqu'à 1 km du trait de côte ; Bas des pentes = jusqu'à l'altitude 200 m ; Amont = au dessus de 200 m d'altitude ; Période 1 = 01/12/05 au 17/02/06 ; Période 2 = 18/02/06 au 04/03/06 ; Période 3 = 05/03/06 au 25/04/06 ; Période 4 = 26/04/06 au 15/05/06)

Ce graphique illustre bien la montée en puissance progressive des traitements de LAV puisque les traitements cumulés des périodes 1 et 2 ont rarement atteint 15 % de la

superficie des zones (Rivière des Marsouins), alors que la plupart des bassins versants ont fait l'objet de traitements importants à partir de la période 3.

En ce qui concerne les traitements réalisés avant la campagne C1, on constate que dans la plupart des sites étudiés (Ravine des Lataniers, Ravine St Gilles, Ravine des Poux), les bassins versants ayant leur débouché à proximité n'avaient fait l'objet que d'une lutte très marginale, voire d'aucune LAV. Seuls les bassins versants à l'amont du port de Ste Marie (Ravines la Mare & Figues) avaient déjà fait l'objet d'une lutte significative dans le secteur intermédiaire (Bas des pentes). Ces données corroborent le constat d'une absence de traces des trois molécules utilisées dans la LAV lors de cette première campagne d'évaluation.

En ce qui concerne les traitements réalisés entre la fin de la tempête DIWA et la campagne C2 (période 3), on constate que la plupart des bassins versants étudiés (Ravine St Gilles, Ravines la Mare & Figues, Etang St Paul, Rivière des Marsouins) ont fait l'objet de traitements très importants (plus de 40% de la surface), en particulier dans la partie inférieure des bassins versants (zones « Littoral » et « Bas des pentes »). La superficie traitée à l'aval des bassins versants de rivières Ste Suzanne et St Jean est quant à elle de l'ordre de 20 %.

Une trace de deltaméthrine est suspectée dans des oursins de la Baie de St Paul, dont le bassin versant a fait l'objet de traitements importants au cours de la période 3 (57 % des surfaces traitées dans la partie aval du bassin versant de l'Etang St Paul).

Ce résultat, certes unique - puisque aucune autre trace (< 10 µg/kg) de deltaméthrine n'a pu être observée, ni dans les organismes aquatiques, ni dans les sédiments – n'en demeure pas moins très important car, si l'on considère sa structure chimique, il apparaissait quasiment impossible de retrouver cette molécule dans des être vivants.

L'absence de traces de fénitrothion (< 20 µg/kg pour C1 et < 5 µg/kg pour C2) et de téméphos (< 50 µg/kg), à la fois dans les sédiments et les organismes marins, est toutefois une bonne nouvelle compte tenu du caractère potentiellement persistant de ces molécules dans l'environnement aquatique.

A noter toutefois deux éléments complémentaires pour l'interprétation des résultats :

- Les métabolites (oxon notamment) de ces substances n'ont pas été recherchés au cours du présent travail. Si ces molécules venaient à être utilisées de nouveau, la recherche de la molécule mère et de ses métabolites devra être mise en oeuvre.
- Ces deux molécules font l'objet d'importations limitées à la Réunion. Elles occupent les rangs 77 et 175 sur 186 molécules. La deltaméthrine est quant à elle beaucoup plus largement utilisée et occupe le 20<sup>ème</sup> rang.

Cette première phase d'évaluation des effets directs potentiels de la LAV contre le Chikungunya en matière de contamination des milieux et des organismes aquatiques met en évidence une quasi absence de traces de contamination par les molécules utilisées. Il est tout de même important de noter que ces résultats doivent être considérés avec une grande prudence compte tenu de l'échantillonnage limité qui a pu être mis en place en fonction des moyens disponibles et de la durée limitée de cette étude.

Le téméphos était le seul larvicide étudié au cours de ces campagnes. En tant que larvicide, il est directement appliqué sur l'eau comme les produits à base de spinosad.

Le calcul des concentrations prévues dans l'environnement en fonction des doses d'application recommandées du téméphos et du spinosad laisse prévoir que le téméphos se retrouvera en concentrations plus élevées dans les eaux de surfaces et dans les sédiments que le spinosad. En effet, la DT<sub>50</sub> du téméphos est plus faible que celle du spinosad, mais ce dernier est appliqué à moins forte dose. (cf. section II : Propriétés physico-chimiques, Evaluation du risque pour l'environnement).

Par conséquent, l'absence de résidus de téméphos dans le milieu marin et estuarien laisse supposer qu'il est peu probable qu'il y ait des résidus de spinosad après des applications équivalentes à celles faites avec le téméphos.

### 3 IMPACT SUR LES ANIMAUX TERRESTRES NON CIBLES

#### 3.1 EFFETS SUR LES OISEAUX ET LES MAMMIFERES

Comme le spinosad est un bio-insecticide larvicide, le produit est directement appliqué sur l'eau.

Deux autres voies d'exposition sont probables :

- les animaux peuvent être exposés au spinosad après avoir bu de l'eau qui a été traitée
- les animaux piscivores peuvent être exposés au spinosad en se nourrissant de poissons contaminés. En effet la valeur un peu élevée du log Pow du spinosad peut signifier que ce composé tend à se bioconcentrer dans les tissus des poissons

Au vu du mode d'application (suspension concentrée contenant du spinosad appliquée directement sur l'eau), l'impact direct sur les animaux terrestres est peu probable. Le risque lié à l'exposition des oiseaux et des mammifères qui se nourrissent de plantes ou insectes contaminés est cependant évalué.

##### 3.1.1 Toxicité sur les oiseaux

Des tests de toxicité ont été conduits avec la substance active technique, sur les deux espèces d'oiseaux recommandées par la réglementation sur les produits phytosanitaires (Directive 91/414/CEE), le canard colvert et le colin de Virginie. Les résultats sont présentés dans le tableau suivant. La toxicité est comparable pour les deux espèces et le spinosad n'est pas considéré comme toxique pour les oiseaux.

Plusieurs études ont été conduites avec la substance active technique afin d'évaluer l'absorption, la distribution, l'excrétion et le métabolisme du spinosad chez le rat (Domoradzki *et al.*, 1995; Thalaker, 1996; Mendrala *et al.*, 1995a et 1995b dans WHO, 2005). L'administration orale du spinosyne A ou D à des rats a entraîné une rapide absorption mais incomplète (> 70 % de la dose) de ces substances.

L'élimination s'est déroulée principalement dans les fèces (70 à 90 %) via la bile, et < 10 % a été retrouvée dans des urines. La majorité de la radioactivité administrée a été retrouvée dans les 24 h suivant l'administration.

La conjugaison avec le glutathion, soit directement ou après O- ou N- déméthylation, a été identifiée comme la voie majeure du métabolisme.

Ainsi les études de toxicité conduites sur les oiseaux couvrent aussi les métabolites. L'évaluation est conduite d'après les valeurs de toxicité des études conduites avec le parent.

Tableau III.4 : Toxicité aviaire du spinosad

Espèce	Conditions	Point final	Résultat	Référence
<b>Toxicité aiguë orale</b>				
Canard colvert <i>Anas platyrhynchos</i>	14 j, EPA 71-1	DL <sub>50</sub>	> 2 000 mg/kg b.w.	WHO (2005)
Colin de Virginie <i>Colinus virginius</i>	14 j, EPA 71-1	DL <sub>50</sub>	> 2 000 mg/kg b.w.	WHO (2005)
<b>Toxicité court-terme alimentaire</b>				
Canard colvert <i>Anas platyrhynchos</i>	5 j, EPA 71-2 & OCDE 205	CL <sub>50</sub>	> 5 156 ppm ≈ 1 289 mg/kg pc/j <sup>1</sup>	WHO (2005)
Colin de Virginie <i>Colinus virginius</i>	5 j, EPA 71-2 & OCDE 205, 88% A+D	CL <sub>50</sub>	> 5 253 ppm ≈ 1 313 mg/kg pc/j <sup>1</sup>	WHO (2005)
<b>Toxicité long-terme (reproduction)</b>				
Canard colvert <i>Anas platyrhynchos</i>	21 semaines, EPA 71-4 (b) & OCDE 206	CSEO	550 ppm ≈ 82,5 mg/kg pc/j <sup>2</sup>	WHO (2005)
Colin de Virginie <i>Colinus virginianus</i>	21 semaines, EPA 71-4 (b) & OCDE 206	CSEO	550 ppm ≈ 55 mg/kg pc/j <sup>3</sup>	WHO (2005)

Facteurs de conversion préconisés par la Commission des Toxiques (Groupe Méthodologie Ecotoxicologie), compte-rendu du 16/12/2005:

- 2 conversion considérant le pire cas où le poids de nourriture consommée par un oiseau au cours des études à court terme correspond à 25% de son poids corporel
- 3 conversion considérant le pire cas où le poids de nourriture consommée par un oiseau au cours des études à court terme correspond à 15% de son poids corporel
- 4 conversion considérant le pire cas où le poids de nourriture consommée par un oiseau au cours des études à court terme correspond à 10% de son poids corporel

### 3.1.2 Toxicité sur les mammifères

Les données pertinentes pour l'évaluation du risque pour les mammifères sont résumées dans le tableau suivant.

Tableau III.5 : Toxicité du spinosad sur le rat

Espèce	Conditions	Point final	Résultat	Référence
Rat	OCDE 401	DL <sub>50</sub>	Mâle > 3 738 mg/kg pc Femelle > 5 000 mg/kg pc	WHO (2005)
Rat	Reproduction 2 générations OCDE 416	DSEIO (Dose Sans Effet Indésirable Observé)	10 mg/kg pc/j Reproduction = 100 mg/kg pc/j	WHO (2005)

### 3.1.3 Risque pour les organismes consommant l'eau traitée

Les espèces qui fréquentent les zones humides sont susceptibles d'ingérer des résidus de substance dus au traitement de l'eau. Le risque encouru est évalué selon les recommandations du document guide SANCO/4145/2000 (EC, 2002b) pour les produits phytosanitaires.

La concentration d'exposition est dans ce cas égale à la  $CPE_{esu}$ , préalablement déterminée pour les conditions prédites d'utilisation du produit contenant cette substance active dans la section environnementale de cette évaluation.

$$CPE_{esu} = 21,4 \mu\text{g/L après la dernière application}$$

Comme le produit contenant du spinosad est directement appliqué sur l'eau, la concentration d'exposition est calculée à partir de la dose appliquée, sans dilution ou dérive.

L'ingestion quotidienne d'eau est calculée selon les formules suivantes (EC, 2002b) :

Pour les oiseaux :  $\text{Dose totale d'eau ingérée (L /jour)} = 0,059W^{0,67}$

Pour les mammifères :  $\text{Dose totale d'eau ingérée (L/ jour)} = 0,099W^{0,90}$

Où W est le poids du corps en kg.

Par conséquent, la dose quotidienne de substance ingérée est calculée comme :  $CPE_{eau \text{ ingérée}} \times \text{Dose totale d'eau ingérée} / W$ .

Les rapports Toxicité-Exposition (RTE) sont calculés pour des oiseaux et des mammifères pour lesquels les données de toxicité à long-terme sont disponibles.

Tableau III.6 : RTE après consommation de l'eau

Organisme	Poids (kg)	Dose totale ingestion d'eau (L /jour)	Dose quotidienne (mg sa/kg pc/d)	DSEIO (mg sa/kg pc/d)	RTE	Valeur seuil
Oiseau	1,0	0,059	$1,2 \cdot 10^{-3}$	55	44 391	> 5
Oiseau	0,01	0,003	$5,8 \cdot 10^{-3}$	55	9 530	
Mammifère	0,35	0,038	$2,4 \cdot 10^{-3}$	10	4 250	
Mammifère	0,01	0,002	$3,4 \cdot 10^{-3}$	10	2 978	

Les résultats indiquent que la quantité de spinosad ingérée par les oiseaux buvant dans un point d'eau traité est bien inférieure à la dose leur étant potentiellement létale. C'est pourquoi aucun risque n'est à prévoir.

### 3.1.4 Risque pour les oiseaux et mammifères se nourrissant de poissons

Une valeur de log Pow supérieure à 3 peut signifier un risque de bioaccumulation le long de la chaîne trophique. Le log Pow du spinosyne A est de 4,01 (23°C, pH 7) et celui du spinosyne D est de 4,53 (23°C, pH 7).

Par conséquent le risque de bioaccumulation est évalué pour les oiseaux et les mammifères selon le document guide européen SANCO/4145/2000 (EC, 2002b). Les modèles proviennent des travaux de Jager (1998) et de Crocker *et al.* (2002).

Cependant, les données expérimentales sur la bioaccumulation des spinosynes A et D ne confirment pas ce potentiel de bioaccumulation. Les facteurs de bioconcentration FBC varient de 6 à 114 pour le spinosyne A et de 40 à 130 pour le spinosyne D.

Le risque à long-terme pour les animaux se nourrissant de proies contaminées est tout de même évalué. Les espèces indicatrices recommandées par le document guide (EC, 2002b) sont l'oiseau de 1000 g et le mammifère de 3 000 g, même si les espèces observées dans cet environnement sont de taille et de poids divers.

Les résidus dans le poisson sont déterminés à partir de la  $CPE_{\text{eau de surface, pondérée}}$  à 21 jours (16,55 µg/L).

$$CPE_{\text{poisson}} = FBC * CPE_{\text{sw,mpt}} (21 \text{ j}) \text{ en mg/kg nourriture}$$

$$CPE_{\text{poisson}} = 130 \times 0,01655 = 2,15 \text{ mg/kg poisson}$$

Le résidu de substance dans les poissons  $CPE_{\text{poissons}}$  est ensuite calculé et converti en dose journalière, en supposant qu'un oiseau de 1 000 g mange 206 g de poisson par jour (conversion préconisée dans le document guide SANCO/4145/2000) et qu'un mammifère de 3 000 g en mange 390 g par jour.

La dose journalière est ainsi calculée puis comparée à la CSEO long terme, ce qui permet de déterminer un rapport RTE (toxicité-exposition).

$$\text{Dose quotidienne} = 0,21 \times 2,15 = 0,45 \text{ mg/kg pc/j pour les oiseaux}$$

$$\text{Dose quotidienne} = 0,13 \times 2,15 = 0,28 \text{ mg/kg pc/j pour les mammifères}$$

Tableau III.7 : TER pour les oiseaux et mammifères se nourrissant de poissons

Espèces	$CPE_{\text{esu, 21 j, mpt}}$ (µg/L)	$CPE_{\text{poisson}}$	ETE* (mg/kg pc/j)	DSEIO (mg/kg pc/j)	RTE	Valeur seuil RTE
Oiseaux	16,55	2,15	0,45	55	121,7	> 5
Mammifères	16,55	2,15	0,28	10	35,7	

\*ETE : Exposition Théorique Estimée

Les valeurs de RTE obtenues sont largement supérieures à la valeur seuil de 5. C'est pourquoi un risque pour les oiseaux mangeant les poissons et pour les mammifères mangeant les poissons n'est pas à prévoir.

### 3.1.5 Risques pour les consommateurs se nourrissant de poissons

Selon les données du GEMS/Food (WHO, 2007), la consommation de poisson d'eaux douces est de 5,4 g/j/personne à l'île Maurice (proche de la Réunion avec des habitudes alimentaires similaires). La concentration prévisible dans le poisson est  $CPE_{\text{poisson}} = CPE_{\text{esu}} \times FBC_{\text{max}} = 21,4 \cdot 10^3 \times 130 = 2,8 \text{ mg de spinosad/kg poisson}$ . La consommation de 5,4 g de poisson entraîne l'ingestion de 0,015 mg de spinosad/j/personne. En prenant le cas défavorable d'un enfant de 14 kg, l'ingestion de spinosad serait de 0,001 mg/j/kg, ce qui est très inférieur à la Dose Journalière Admissible (DJA) établie à 0,024 mg/kg pc/j en France (AFSSA, 2006). Par conséquent, nous pouvons considérer que le risque humain après consommation de poissons contaminés est acceptable et que l'emploi de produit contenant

du spinosad sur des eaux susceptibles d'alimenter des piscicultures ne devrait pas entraîner de risque inacceptable pour la santé humaine.

### 3.1.6 Oiseaux et mammifères se nourrissant dans les zones adjacentes

Au moment de l'application directe du produit sur l'eau, les zones terrestres adjacentes au point d'eau traité peuvent être contaminées par la dérive de pulvérisation. Les oiseaux et autres mammifères peuvent donc être exposés par la consommation de certaines parties des végétaux traités (feuilles, graines...) ou d'invertébrés qui ont été exposés au produit par la dérive de pulvérisation.

Ce scénario d'exposition est issu du document « OCDE Task Force on Biocides 2nd Draft Emission Scenario Document for Insecticides, acaricides and products to control other arthropods (PT 18) for household and professional uses », du 28 juillet 2006, qui préconise d'évaluer le risque pour les oiseaux et mammifères se nourrissant à proximité de la zone traitée selon l'approche du document guide (EC, 2002b), en utilisant des espèces représentatives différentes, vivant dans les zones proches des habitations, appelées « pelouses/jardin ». Ces espèces sont présentées dans le tableau III.8. Cette approche est adaptée à l'utilisation du spinosad à la Réunion où il est destiné à être appliqué en zones urbaines et périurbaines. Les espèces recommandées sont comparables à des espèces présentes sur l'Île de la Réunion en termes de régime alimentaire, taille et poids.

Les espèces préconisées par le document SANCO/4145/2000 (EC, 2002b) sont aussi prises en compte afin d'élargir la portée de l'évaluation du risque. Toutes les espèces recommandées par ce document et susceptibles d'être exposées lors de l'application de produit à base de spinosad dans le cadre de la lutte antivectorielle sont prises en compte.

Tableau III.8 : Espèces représentatives des zones « pelouse/jardin »

Espèce indicatrice	Alimentation
Mammifère insectivore – 7,6 g	Gros insectes
Mammifère insectivore – 1 100 g	Gros insectes/ vers et limaces
Mammifère insectivore : 10 100 g	Gros insectes/ vers de terre et limaces
Mammifère herbivore : 1 500 g	Plantes feuillues
Oiseau insectivore: 22 g	Petits insectes
Oiseau insectivore: 113 g	Vers de terre/ insectes
Oiseau omnivore : 225 g	80% matières animales (insectes, petits mammifères)

L'estimation du risque est réalisée selon les recommandations de l'OEPP (1994) et les recommandations européennes décrites dans le document SANCO/4145/2000 (EC, 2002b).

Les valeurs d'ETE (Exposition Théorique Estimée) sont calculées selon l'équation générale suivante :

$$ETE (mg \text{ s.a./kg p.c.}) = (FIR/pc) \times C \times AV \times PT_i \times PD_i \times MAF$$

où :

- FIR est le taux de nourriture ingérée par l'espèce indicatrice (g poids frais par jour) et pc le poids corporel (g)

- C : La concentration en résidus de substance active (ppm). Les valeurs standards de résidus de substance active (ppm) dans les plantes et les invertébrés immédiatement après l'application d'un pesticide sont calculées pour un taux d'application de 1 kg s.a./ha et sont appelées RUD (Résidu par Unité de Dose).

*Concentration en résidus (mg s.a./kg nourriture) = dose d'application (kg s.a./ha) x RUD*  
Pour l'exposition aiguë, on utilise le 90<sup>ème</sup> percentile tandis qu'en exposition à court et long terme, la valeur moyenne est prise en compte.

- AV est le potentiel répulsif (1 = pas de répulsion, 0 = répulsion totale)
- PT<sub>i</sub> est la fraction *i* de nourriture obtenue dans la zone traitée
- PD<sub>i</sub> est la fraction de nourriture de type *i* dans l'alimentation de l'espèce considérée
- MAF : le facteur d'applications multiples représente l'accumulation de résidus en cas d'applications multiples. Il est fonction de l'intervalle entre les applications, du nombre d'applications, et de la durée d'exposition.

Les valeurs considérées dans le cadre de cette évaluation sont énoncées ci-dessous.

La dérive maximum pouvant atteindre les zones adjacentes correspond à une application à l'aide de lances. Selon le document guide FOCUS (2001) la dérive est de 33,2 % (données extraites à partir d'AgDrift). La dose maximum susceptible de contaminer les zones terrestres adjacentes est de 11,6 g s.a./ha.

Pour une évaluation initiale et dans le cadre d'un scénario du pire cas, nous supposons que :

- la nourriture contaminée n'est pas répulsive (AV = 1)
- les animaux se nourrissent exclusivement dans la zone traitée (PT<sub>i</sub> = 1)
- les animaux se nourrissent exclusivement de l'aliment contaminé (PD<sub>i</sub> = 1)

Le facteur d'applications multiples est de 1,4 pour l'exposition aiguë et de 1,62 pour l'exposition à court et à long terme. En effet la préparation est appliquée 2 fois dans l'année avec un intervalle de 7 jours entre 2 applications (EC, 2002b).

Pour les espèces recommandées par l'OCDE, les équations de calcul d'ETE préconisées dans le document « OCDE Task Force on Biocides 2nd Draft Emission Scenario Document for Insecticides, acaricides and products to control other arthropods (PT 18) for household and professional uses » (OCDE, 2006), du 28 juillet 2006 sont utilisées. Le scénario « Traitement des murs » est choisi, car il est défavorable.

Tableau III.9 : Equations de calcul d'ETE pour les oiseaux selon le document de l'OCDE (PT 18)

<b>Oiseaux exposition aiguë</b>	
<b>Oiseaux insectivores</b>	ETE = ( FIR/pc) x RUD x APPL <sub>ground</sub> X 1,75
<b>Oiseau herbivores</b>	ETE = ( FIR/pc) x RUD x APPL <sub>ground</sub> X 1,75 x MAF
<b>Oiseau omnivore</b>	ETE = ( FIR/pc) x RUD x APPL <sub>ground</sub> X 1,75
<b>Oiseaux exposition à court terme</b>	
<b>Oiseaux insectivores</b>	ETE = ( FIR/pc) x RUD x APPL <sub>ground</sub> X 3,5
<b>Oiseau herbivores</b>	ETE = ( FIR/pc) x RUD x APPL <sub>ground</sub> X 3,5 x MAF

<b>Oiseau omnivore</b>	$ETE = (FIR/pc) \times RUD \times APPL_{ground} \times 3,5$
------------------------	---

$APPL_{ground}$  : dose de substance active appliquée, en kg/ha.

Tableau III.10 : Equations de calcul d'ETE pour les mammifères selon le document de l'OCDE (PT 18)

<b>Mammifères exposition aiguë</b>	
<b>Mammifère insectivore</b>	$ETE = (FIR/pc) \times RUD \times APPL_{ground} \times 1,75$
<b>Mammifère herbivore</b>	$ETE = (FIR/pc) \times RUD \times APPL_{ground} \times 1,75 \times MAF$
<b>Mammifères exposition à court terme</b>	
<b>Mammifère insectivore</b>	$ETE = (FIR/pc) \times RUD \times APPL_{ground} \times 3,5$
<b>Mammifère herbivore</b>	$ETE = (FIR/pc) \times RUD \times APPL_{ground} \times 3,5 \times MAF$

$APPL_{ground}$  : dose de substance active appliquée, en kg/ha.

Les RTE (Ratios Toxicité-Exposition) sont calculés avec les données de toxicité les plus défavorables.

### Exposition aiguë

Tableau III.11 :  $RTE_{aigu}$  pour les oiseaux

<b><math>RTE_{aigu}</math> pour les oiseaux</b>							
Toxicité aiguë : $DL_{50} > 2\ 000$ mg s.a./kg pc							
Espèce représentative	Dose (g/ha)	FIR/pc	RUD (90%)	MAF	$ETE_A$	$RTE_A$	Valeur seuil (91/414/CEE)
Espèces SANCO/4145/2000							
Grand oiseau herbivore	11,6	0,44	142	1,4	1,02	1 968	10
Oiseau herbivore moyen		0,76	87	1,4	1,08	1 859	
Oiseau insectivore		1,04	52	n/a	0,63	3 188	
Espèces document PT 18 sur les biocides							
Oiseau insectivore: 22 g	11,6	0,2	52	n/a	0,21	9 473	10
Oiseau insectivore: 113 g		0,44	14	n/a	0,12	15 993	
Oiseau omnivore : 225 g		0,44	142	n/a	1,27	1 576	

Les valeurs de  $RTE_{aigu}$  pour le spinosad sont supérieures à la valeur seuil de 10 définie par la directive européenne 91/414/CEE, et de ce fait l'application du produit contenant du spinosad selon les usages recommandés ne présente pas de risque inacceptable en aigu pour les oiseaux.

Tableau III.12 : RTE<sub>aigu</sub> pour les mammifères

<b>RTE<sub>aigu</sub> pour les mammifères</b>							
Toxicité aiguë : DL <sub>50</sub> > 3 738 mg s.a./kg pc							
Espèce représentative	Dose (g/ha)	FIR/pc	RUD (90 %)	MAF	ETE <sub>A</sub>	RTE <sub>A</sub>	Valeur seuil (91/414 /CEE)
Espèces SANCO/4145/2000							
Petit mammifère herbivore	11,6	1,39	142	1,4	3,21	1 164	10
Mammifère herbivore moyen		0,28	87	1,4	0,40	9 433	
Mammifère insectivore		0,63	14	n/a	0,10	36 472	
Espèces document PT 18 sur les biocides							
Mammifère insectivore – 7.6 g	11,6	0,68	14	n/a	0,19	19 342	10
Mammifère insectivore – 1 100 g		0,18	14	n/a	0,05	73 070	
Mammifère insectivore : 10 100 g		0,18	14	n/a	0,05	73 070	
Mammifère herbivore : 1 500 g		0,32	87	1,4	0,79	4 724	

Les valeurs de RTE<sub>aigu</sub> pour le spinosad sont très largement supérieures à la valeur seuil de 10 définie par la directive européenne 91/414/CEE, et de ce fait l'application du produit contenant du spinosad selon les usages recommandés ne présente pas de risque inacceptable en aigu pour les mammifères.

### Exposition à court terme

Après application de la préparation, les oiseaux peuvent consommer de la nourriture contaminée pendant plus d'un jour, et par conséquent l'absence de risque indésirable à court et long terme doit être vérifiée. Les résultats des études d'exposition alimentaire (5 jours) donnent une indication de la toxicité à court terme. Dans le cadre d'un scénario du pire-cas, on considère que les oiseaux ne consomment qu'un seul type de nourriture, contaminée, sans aucune répulsion.

Les résultats obtenus sont donnés dans le tableau suivant.

Tableau III.13 :  $RTE_{court\ terme}$  pour les oiseaux

<b>TER<sub>CT</sub> pour les oiseaux</b>							
Toxicité alimentaire à 5 jours : $CL_{50} > 1\ 289\ mg/kg\ pc$							
Espèce représentative	Dose (g/ha)	FIR/pc	RUD moyen	MAF	ETE <sub>CT</sub>	RTE <sub>CT</sub>	Valeur seuil (91/414/CEE)
Espèces SANCO/4145/2000							
Grand oiseau herbivore	11,6	0,44	76	1,62	0,63	2 053	10
Oiseau herbivore moyen		0,76	40	1,62	0,57	2 259	
Oiseau insectivore		1,04	29	n/a	0,35	3 678	
Espèces document PT 18 sur les biocides							
Oiseau insectivore: 22 g	11,6	0,2	29	n/a	0,23	5 474	10
Oiseau insectivore: 113 g		0,44	5,1	n/a	0,09	14 148	
Oiseau omnivore : 225 g		0,44	5,1	n/a	0,09	14 148	

Les valeurs de  $RTE_{court\ terme}$  pour le spinosad sont largement supérieures à la valeur seuil de 10 définie par la directive européenne 91/414/CEE, et de ce fait l'application du produit contenant du spinosad selon les usages recommandés ne présente pas de risque inacceptable sur le court terme pour les oiseaux.

### Exposition à long terme

Pour l'évaluation à long terme les teneurs en résidus pondérées (moyenne pondérée par le temps, mpt) dans la végétation sont utilisées car elles reflètent mieux l'exposition sur le long terme. La diminution des concentrations de résidus dans la végétation est considérée : les valeurs par défaut sont une période de 3 semaines et une  $DT_{50}$  de 10 jours dans la

végétation. Ainsi le facteur  $f_{mpt} = \frac{1 - e^{-kt}}{kt}$  est égal à 0,53, où k est la constante de vitesse et

t la période considérée pour la pondération.

L'évolution de la contamination dans les insectes en fonction du temps est peu connue, en raison de nombreux facteurs qui entrent en jeu tels que le remplacement des individus dû à la migration ou la reproduction. Ainsi aucun facteur n'est pris en compte dans le cas des animaux insectivores.

Pour les espèces recommandées par l'OCDE, aucune équation de calcul d'ETE spécifique à l'exposition à long terme n'est disponible. C'est pourquoi les valeurs d'exposition à court terme sont utilisées. Ces valeurs n'intègrent pas le facteur de pondération dans le temps ( $f_{mpt}$ ) comme c'est le cas des valeurs d'ETE long terme calculées selon le document SANCO/4145/2000 (EC, 2002b). Elles représentent donc un cas défavorable.

Tableau III.14 :  $RTE_{long\ terme}$  pour les oiseaux

<b><math>RTE_{LT}</math> pour les oiseaux</b>								
Toxicité de reproduction : DSEO = 55 mg s.a./kg pc								
Espèce représentative	Dose (g/ha)	FIR/pc	RUD moyen	$f_{mpt}$	MAF	$ETE_{LT}$	$RTE_{LT}$	Valeur seuil (91/414/CEE)
Espèces SANCO/4145/2000								
Grand oiseau herbivore	11,6	0,44	76	0,53	1,62	0,33	166	5
Oiseau herbivore moyen		0,76	40	0,53	1,62	0,30	182	
Oiseau insectivore		1,04	29	n/a	n/a	0,35	157	
Espèces document PT 18 sur les biocides								
Oiseau insectivore: 22 g	11,6	0,2	29	--	n/a	0,24	233	5
oiseau insectivore: 113 g		0,44	5,1	--	n/a	0,09	603	
Oiseau omnivore : 225 g		0,44	5,1	--	n/a	0,09	603	

Les valeurs de  $RTE_{long\ terme}$  pour le spinosad sont supérieures à la valeur seuil de 5 définie par la directive européenne 91/414/CEE, et de ce fait l'application du produit contenant du spinosad selon les usages recommandés ne présente pas de risque inacceptable sur le long terme pour les oiseaux.

Tableau III.15 :  $RTE_{long\ terme}$  pour les mammifères

RTE <sub>LT</sub> pour les mammifères								
Toxicité de reproduction : DSEIO = 10 mg s.a./kg pc								
Espèces SANCO/4145/2000								
Espèce représentative	Dose (g/ha)	FIR/p c	RUD moyen	f <sub>mpt</sub>	MAF	ETE <sub>LT</sub>	RTE <sub>LT</sub>	Valeur seuil (91/414/ CEE)
Petit mammifère herbivore	11,6	1,39	76	0,53	1,4	1,04	9,6	5
Mammifère herbivore moyen		0,28	40	0,53	1,4	0,11	90	
Mammifère insectivore		0,63	5,1	n/a	n/a	0,04	268	
Espèces document PT 18 sur les biocides								
Mammifère insectivore – 7,6 g	11,6	0,68	5,1	n/a	n/a	0,14	71	5
Mammifère insectivore – 1 100 g		0,18	5,1	n/a	n/a	0,03	268	
Mammifère insectivore : 10 100 g		0,18	5,1	n/a	n/a	0,03	268	
Mammifère herbivore : 1 500 g		0,32	40	1,00	1,6	0,83	12	

Les valeurs de  $RTE_{long\ terme}$  pour le spinosad sont supérieures à la valeur seuil de 5 définie par la directive européenne 91/414/CEE, et de ce fait l'application du produit contenant du spinosad selon les usages recommandés ne présente pas de risque inacceptable sur le long terme pour les mammifères.

### 3.1.7 Risque pour les animaux se nourrissant de vers de terre dans les zones adjacentes

La bioaccumulation potentielle depuis les vers de terre est évaluée à partir des valeurs de  $CPE_{sol, mpt}$  à 21 jours déterminées dans la section environnement et du facteur de bioconcentration FBC (=  $C_{vers\ de\ terre}/C_{sol}$ ) calculé selon l'équation suivante :

$$FBC = \frac{0,84 + 0,01 \cdot K_{ow}}{f_{oc} \cdot K_{oc}}$$

avec :

- $f_{oc}$  = teneur en carbone organique du sol (valeur défavorable représentative des sols de la Réunion = 0,069)
- $K_{oc}$  = coefficient défini lors des études d'adsorption (valeur minimale de 835)
- Log Pow (spinosyne D) = 4,53 (cas défavorable), Log Pow (spinosyne A) = 4,01

Nous avons donc FBC = 5,90

L'estimation des résidus de substance dans les vers de terre  $CPE_{\text{vers}}$  (en mg s.a./kg vers) est ensuite calculée en multipliant la valeur de  $CPE_{\text{sol, mpt}}$  par le facteur FBC, ce qui conduit à :

$$CPE_{\text{vers de terre}} = 0,015 \times 5,90 = 0,088 \text{ mg/kg}$$

Le résidu de substance dans les vers de terre  $CPE_{\text{vers de terre}}$  est ensuite converti en dose journalière, en supposant qu'un oiseau de 100 g mange 113 g de vers de terre par jour (conversion préconisée dans le document guide SANCO/4145/2000 (EC, 2002b)) et qu'un mammifère de 10 g en mange 14 g par jour.

Dose quotidienne =  $1,1 \times 0,088 = 0,097 \text{ mg/kg pc/j}$  pour les oiseaux

Dose quotidienne =  $1,4 \times 0,088 = 0,124 \text{ mg/kg pc/j}$  pour les mammifères

La dose journalière est ainsi calculée puis comparée à la DSEIO long terme, ce qui permet de déterminer un RTE.

Tableau III.16 : RTE pour les oiseaux et mammifères se nourrissant de vers de terre

Espèces	$CPE_{\text{sol, 21 j, mpt}}$ (mg/kg)	$CPE_{\text{vers de terre}}$	ETE (mg/kg pc/jour)	DSEIO (mg/kg pc/jour)	RTE	Valeur seuil RTE
Oiseau	0,015	0,088	0,097	55	565	> 5
Mammifère	0,015	0,088	0,124 42	10	80	

Les RTE obtenus indiquent qu'il n'existe pas de risque de bioaccumulation du spinosad par le biais de l'ingestion de vers de terre exposés suite à l'application du produit, quelle que soit la culture considérée.

### 3.2 EFFETS SUR LES ABEILLES

Tableau III.17 : Toxicité du spinosad et d'une préparation à base de spinosad (coformulants non connus) sur les abeilles

Espèces	Substance testée	Conditions	Point final ( $\mu\text{g s.a./abeille}$ )	Référence
<b>Exposition orale</b>				
<i>Apis mellifera</i>	TAI*	OCDE 213	Oral DL <sub>50</sub> = 0,057	WHO (2005)
	TAI*	OEPP 170	Oral DL <sub>50</sub> = 0,0057	WHO (2005)
	Préparation 480 SC	OCDE 213 & OEPP 170	Oral DL <sub>50</sub> = 0,049	WHO (2005)
<b>Exposition par contact</b>				
<i>Apis mellifera</i>	TAI*	OCDE 214	Contact DL <sub>50</sub> = 0,003 6	WHO (2005)
	Préparation 480 SC	OCDE 214	Contact DL <sub>50</sub> = 0,050	WHO (2005)

\* Technical active ingredient = substance active technique.

Le risque pour les abeilles lié à l'application du produit contenant du spinosad est évalué par le calcul des coefficients de risque selon la directive européenne 96/12/CE pour les produits phytosanitaires.

Le quotient de risque (QR) est défini comme le rapport entre la dose maximum d'application exprimée en grammes de substance active par hectare et les DL<sub>50</sub> orale ou de contact exprimées en  $\mu\text{g}$  de substance active ou de produit formulé.

Les quotients de risque QR<sub>O</sub> et QR<sub>C</sub> sont calculés à partir des données de toxicité de la substance active et de la préparation (exprimée en quantité de substance active). Les résultats sont présentés dans le tableau suivant.

Comme le produit formulé est appliqué directement sur l'eau, nous considérons que le risque pour les abeilles est dû à la contamination sur la zone adjacente du secteur traité par la dérive de la pulvérisation.

La dérive maximum pouvant atteindre les zones adjacentes correspond à une application à l'aide de lances. Selon le document guide FOCUS (2001) la dérive est de 33,2 % (données extraites à partir d'AgDrift). La dose maximum susceptible de contaminer les zones terrestres adjacentes est de 11,6 g a.s./ha.

Les quotients de risque QR<sub>O</sub> et QR<sub>C</sub> sont calculés à partir de la dose maximale due à la dérive de pulvérisation et les données de toxicité.

Tableau III.18 : Quotients de risque pour les abeilles exposées au spinosad

Dose reçue (g s.a./ha)	Toxicité aiguë ( $\mu\text{g s.a./abeille}$ )	Quotient de risque QR	Valeur seuil
11,6	Contact CL <sub>50</sub> = 0,003 6	3 222	< 50
11,6	Oral CL <sub>50</sub> = 0,005 7	2 035	

Les résultats de QR obtenus ne permettent pas d'exclure un risque pour les abeilles exposées au spinosad.

Le risque pour les abeilles lié à l'application de spinosad peut être aussi évalué en fonction des données de toxicité de la préparation.

Tableau III.19 : Coefficients de risque pour les abeilles exposées au spinosad à partir des données de toxicité obtenues avec une formulation

Dose reçue (g s.a./ha)	Toxicité aiguë (µg s.a./abeille)	Quotient de risque QR	Valeur seuil
11,6	Contact CL <sub>50</sub> = 0,05	232	< 50
11,6	Oral CL <sub>50</sub> = 0,049	236	

Les QR obtenus avec les valeurs de toxicité de la préparation sont plus faibles, indiquant que le risque pour les abeilles lors de l'utilisation de la préparation est en réalité moins grand que le QR obtenu avec les valeurs de toxicité de la substance active ne le laissait supposer. Cependant, les valeurs obtenues dépassent encore le seuil de 50. Un risque pour les abeilles ne peut donc pas être exclu.

## Conclusion

Il est à noter que le calcul d'un quotient de risque (QR) est élaboré pour les produits à usage agricole. Le calcul d'un QR pour un usage biocides est moins adapté.

Les informations disponibles montrent un risque élevé pour les abeilles lié à l'application de produit contenant du spinosad en usage larvicide. En effet, la substance possède une toxicité intrinsèque élevée, prouvée en laboratoire. Cependant des études de terrain seraient souhaitables.

En l'absence de données plus précises, des mesures de gestion du risque appropriées doivent être prises, comme par exemple :

- appliquer le produit en dehors des périodes d'activité des abeilles en vertu de l'arrêté du 28 novembre 2003 relatif aux conditions d'utilisation des insecticides et acaricides à usage agricole en vue de protéger les abeilles et autres insectes pollinisateurs,
- utiliser des buses anti-dérive.

Le bilan du premier traitement effectué en 2006 avec d'autres produits larvicides et adulticides que le spinosad indique que le respect du protocole d'application et la mise en place de celui-ci en partenariat avec les apiculteurs sont indispensables à la réduction des effets néfastes générés sur les populations d'abeilles. Le surdosage, le non-respect des distances de sécurité aux ruches, la contamination de plantes en floraison sont des facteurs ayant des répercussions importantes sur la gravité des impacts sur les abeilles. Le traitement des ravines et des points d'eau à proximité de ruches, en période d'intense activité de production de couvain nécessitant beaucoup d'eau, a eu un impact certain sur la qualité du couvain et son importance.

La prise en compte, dans le calendrier des applications, des données spécifiques de la zone traitée est indispensable. La saison de la miellée, la quantité de ressources disponibles qui peut faire varier le rayon d'action des abeilles, influençant le degré d'exposition des abeilles au produit (DIREN, 2006b).

### 3.3 EFFETS SUR ORGANISMES NON CIBLES DU SOL

#### 3.3.1 Approche par le calcul de RTE

##### Vers de terre

Les données de toxicité du spinosad sur les vers de terre sont résumées dans le tableau ci-dessous.

Tableau III.20 : Toxicité du spinosad sur les vers de terre

<b>Substance testée</b>	Spinosad
<b>Organisme</b>	<i>Eisenia foetida</i>
<b>Conditions</b>	14 j, 20°C
<b>DL<sub>50</sub> mg s.a./kg sol</b>	> 970
<b>Référence</b>	WHO (2005)

L'évaluation du risque pour les vers de terre est basée sur le calcul du RTE avec les données de toxicité et d'exposition les plus défavorables et selon la formule :

$$RTE_{A, \text{ ver de terre}} = (CL_{50}/2) / CPE_{\text{sol, maximum}}$$

Comme le produit contenant du spinosad est appliqué directement sur l'eau, le risque pour les vers de terre ne peut être dû qu'à la contamination du sol par la dérive de pulvérisation.

Le calcul de la  $CPE_{\text{sol, maximum}}$  est détaillé dans la section 2 (Propriétés physico-chimiques - Evaluation du risque pour l'environnement).

$$CPE_{\text{sol, maximum}} = 0,015 \text{ mg de spinosad /kg sol après 2 applications}$$

La  $CL_{50}$  de la préparation est exprimée en mg de substance active pour le calcul du RTE.

Tableau III.21 : Calcul du  $RTE_{\text{Aigu}}$  pour les vers de terre

Substance testée	CL <sub>50</sub> (mg s.a. /kg sol)	CPE <sub>sol, max</sub> (mg/kg sol)	RTE <sub>A</sub>	Annexe VI (91/414/CEE)
Spinosad	> 970	0,015	> 32 333	≥ 10

Les valeurs de RTE<sub>A</sub> sont largement supérieures au seuil de 10 définies par la directive 91/414/CEE. Par conséquent, il n'y a pas de risque aigu pour les vers de terre après application de spinosad.

##### Micro-organismes non cibles du sol

L'impact de la substance active sur l'activité microbienne du sol a été évalué par la transformation de l'azote et la minéralisation du carbone pour le spinosad et les deux métabolites.

Tableau III.22 : Effets du spinosad et de ses métabolites sur les micro-organismes non ciblés du sol

Type d'étude	Substance testée	Dose testée	Effet observé	Référence
Cycle du C	Spinosad	0,72 mg s.a./kg sol	< 25 %	AFSSA (2006)
Cycle du N		7,2 mg s.a./kg sol	< 25 %	
Cycle du C	Spinosyne B	0,72 mg s.a./kg sol	< 25 %	
Cycle du N		7,2 mg s.a./kg sol	55 %	
Cycle du C	Spinosyne B	0,72 mg s.a./kg sol	Aucun effet	
Cycle du N		3,6 mg s.a./kg sol	Aucun effet	
Cycle du C	Spinosyne D-N deméthylé	0,38 mg s.a./kg sol	Aucun effet	
Cycle du N		1,92 mg s.a./kg sol	Aucun effet	
Cycle du C	Spinosyne D-N deméthylé	0,38 mg s.a./kg sol	Aucun effet	
Cycle du N		1,92 mg s.a./kg sol	Aucun effet	

### Conclusion :

La CPE<sub>sol</sub> pour le spinosad est de 0,015 mg/kg de sol, cette valeur est bien inférieure à la dose minimale testée qui produit des effets inférieurs à 25 %. C'est pourquoi le risque sur les microorganismes du sol peut être considéré comme négligeable.

### 3.3.2 Approche par la détermination d'une CPSE<sub>sol</sub>

L'évaluation de risques est basée sur le calcul d'une CPSE<sub>sol</sub> (Concentration prévisible sans effet). Pour suivre l'approche décrite dans le TGD (2003), la CPSE est la concentration au-dessous de laquelle aucun effet n'est prévu. La CPSE est établie à partir des données de toxicité de la substance active et de la préparation, affectées de facteurs de sécurité appropriés donnés dans le TGD.

Rappel des données de toxicité :

- DL<sub>50</sub> vers de terre : > 970 mg s.a./kg sol

- % effet sur les micro-organismes du sol :

Dose testée (mg/kg sol)	% Effets
0,72	cycle de C : < 25 % cycle de N : < 25 %
7,2	cycle de C : < 25 % cycle de N : 55 %

---

Facteur de sécurité recommandé par le TGD : 1 000 (disponibilité de deux données de toxicité terrestre à court terme) :

$$CPSE_{\text{sol}} : 0,72 \mu\text{g s.a./kg de sol}$$

Évaluation du risque :

Le risque pour les vers de terre est alors évalué en effectuant le rapport de la concentration prévisible dans l'environnement sur la concentration prévisible sans effet.

Le calcul de la  $CPE_{\text{sol, maximum}}$  est détaillé dans la partie environnement de cette évaluation.

$$CPE_{\text{sol, maximum}} = 0,015 \text{ mg de spinosad /kg sol après 2 applications}$$

$$CPE_{\text{sol}}/CPSE_{\text{sol}} = 0,015 / 0,00072 = 20$$

Le rapport de la CPE sur la CPSE est supérieur à 1, ce qui signifie que selon cette approche, un risque pour les organismes du sol, lié à la dérive sur les zones adjacentes aux zones d'application de produit contenant du spinosad, ne peut être écarté.

---

## 4 CONCLUSION GENERALE

---

Le spinosad est une substance active agissant sur le système nerveux central des insectes qui est appliquée en tant que larvicide directement dans les compartiments aquatiques sous forme de suspension concentrée.

L'absence de risque pour les organismes aquatiques n'a pas pu être démontré. La comparaison des rapports CPE/CPSE montre un risque inacceptable aux doses proposées pour la plupart des organismes traités et notamment pour les producteurs primaires, les invertébrés et les organismes vivant dans les sédiments.

En raison du mode d'application du produit contenant du spinosad, les organismes terrestres peuvent être potentiellement exposés. Les calculs de risques ont montré que le risque était acceptable pour les oiseaux et les mammifères buvant de l'eau contaminée, se nourrissant de poissons dans la zones traitées ou se nourrissant dans une zone adjacente à la zone traitée.

La forte toxicité intrinsèque du produit envers les abeilles conduit à un risque inacceptable pour cet organisme lors de l'application de produit contenant du spinosad en usage larvicide. Par conséquent, des mesures de gestion du risque seraient nécessaires telles qu'un appareillage plus sélectif, une limitation des périodes de traitement en fonction de la biologie des abeilles...

Le risque est considéré comme acceptable pour les vers de terre et les micro-organismes du sol.

L'ensemble des résultats est présenté dans le tableau ci-dessous :

Tableau III.23 : Récapitulatif de l'évaluation du risque écotoxicologique pour l'application du produit contenant du spinosad.

Type d'organisme		CPSE si existante	Résultat	Valeur seuil	Risque	
<b>Aquatiques</b>	<b>Général</b>	0,17 µg/L	CPE/CPSE > 1	< 1	Non écarté	
<b>Terrestres</b>	<b>Oiseaux</b>	<i>Buvant l'eau</i>	-	RTE = 9 530	> 5	Ecarté
		<i>Se nourrissant de poissons</i>	-	RTE = 121,7	> 5	Ecarté
		<i>Se nourrissant de vers de terre</i>	-	RTE = 565	> 5	Ecarté
		<i>Zone adjacente</i>	-	RTE <sub>aigu</sub> = 151	> 10	Ecarté
				RTE <sub>court terme</sub> = 2 369	> 10	Ecarté
				RTE <sub>long terme</sub> = 15	> 5	Ecarté
	<b>Mammifères</b>	<i>Buvant l'eau</i>	-	RTE = 2 978	> 5	Ecarté
		<i>Se nourrissant de poissons</i>	-	RTE = 35,7	> 5	Ecarté
		<i>Se nourrissant de vers de terre</i>	-	RTE = 80	> 5	Ecarté
		<i>Zone adjacente</i>	-	RTE <sub>aigu</sub> = 1 630	> 10	Ecarté
				RTE <sub>long terme</sub> = 11	> 5	Ecarté
	<b>Abeilles</b>		-	QR <sub>Oral SA</sub> = 2 035 QR <sub>Oral Prépa</sub> = 236	< 50	Non écarté
			-	QR <sub>Contact SA</sub> = 3 222 QR <sub>Contact Prépa.</sub> = 232	< 50	Non écarté
	<b>Vers de terre</b>	-	RTE = 32 333	> 10	Ecarté	
<b>Micro-organismes du sol</b>	-	Effets < 25 %	< 25 %	Ecarté		
<b>Général</b>		0,72 µg/kg sol	CPE/CPSE = 20	< 1	Non écarté	

## LISTE DES REFERENCES

**Partie I:** Liste des revues issues des organismes officiels et utilisées pour la constitution de ce document :

- AFSSA (2006) Base de données Agritox : <http://www.dive.afssa.fr/agritox/>
- Agence de Réglementation de la lutte anti-parasitaire (ARLA) (2001) Spinosad - Insecticide SUCCES® 480SC Naturalyte - Insecticide CONSERVE® 480SC Naturalyte.
- WHO (2005) Who specifications et evaluations for public health pesticides – SPINOSAD, WHO Report 636/2005

**Partie II:** liste des autres références citées dans ce document

- Crocker DR, Hart A, Gurney J and McCoy C (2002): Methods for estimating daily food intake of wild birds and mammals. Central Science Laboratory, Project PN0908. Final Report. <http://www.pesticides.gov.uk/general/ResearchReports/index.htm>
- DIREN (2006a) Suivi environnemental de l'impact potentiel de la lutte antivectorielle mise en oeuvre contre le Chikungunya. Evaluation de la qualité de l'eau, des sédiments et de la contamination d'organismes aquatiques en milieux marin et estuarien. Lionel Gardes, 28 juin 2006.
- DIREN (2006b) Etude des impacts à court terme de la lutte antivectorielle sur les abeilles dans le cadre de l'épidémie de Chikungunya. Eric Métas : Syndicat apicole de la Réunion.
- Domoradzki, J.Y., Stewart, H.S., Gilbert, J.R. & Markham, D.A. (1995) XDE-105 (factor A): Metabolism and distribution of <sup>14</sup>C labelled XDE-105 (factor A) in Fischer 344 rats. Unpublished report No. DECO-HET-DR-0323-1194-012. Submitted to WHO by Dow AgroSciences, Letcombe, United Kingdom.
- EC (2002a) SANCO/3268/2001 rev.4 (final du 17/10/02). European Commission Working Document, Guidance Document on Aquatic Ecotoxicology.
- EC (2002b) Guidance document on risk assessment for birds and mammals under council directive 91/414/EEC. European Commission, SANCO/4145/2000, 24 September 2002.
- OEPP (1994): Decision-making scheme for the environmental risk assessment of plant protection products. Chapter 11, terrestrial vertebrates. OEPP Bulletin, Vol. 24, No. 1, March 1994.
- FOCUS (2001). "FOCUS Surface Water Scenarios in the EU Evaluation Process under 91/414/EEC". Rapport du groupe de travail FOCUS sur les Scénarios Eaux de Surface, Document EC Référence SANCO/4802/2001-rev.2. 245 pp.
- Jager T (1998): Mechanistic approach for estimating bioconcentration of organic chemicals in earthworms (Oligochaeta). Environ Toxicol Chem 17, 2080-2090.
- Mendrala, A.L., Gilbert, J.R., Stewart, H.S. & Domoradzki, J.Y. (1995a) XDE-105 (factor D): Metabolism and tissue distribution of <sup>14</sup>C-labelled XDE-105 (factor D) in Fischer 344 rats. Unpublished report No. DECO-HET-DR-0335-0070-00. Submitted to WHO by Dow AgroSciences, Letcombe, United Kingdom.
- Mendrala, A.L., Gilbert, J.R., Stewart, H.S. & Domoradzki, J.Y. (1995b) Bile elimination of XDE-105 (factor D) in Fischer 344 rats. Unpublished report No. DECO-

---

HET-DR-0335-0070-002. Submitted to WHO by Dow AgroSciences, Letcombe, United Kingdom.

- OECD (2006) OECD Task Force on Biocides 2nd Draft Emission Scenario Document for Insecticides, acaricides and products to control other arthropods (PT 18) for household and professional uses.
- TGD (2003) Technical Guidance Document on risk assessment, Institute for Health and Consumer Protection, European Chemical Bureau, EUR 20418 EN/2, 2003.
- Thalaker, F.W. (1996) Bioaccumulation of <sup>14</sup>C-spinosyn A in female Fischer 344 rats following repeated oral administration of <sup>14</sup>C-spinosyn A. Unpublished report No. DR-0323-1194-043. Submitted to WHO by Dow AgroSciences, Letcombe, United Kingdom.
- WHO (2007) Global Environment Monitoring System - Food Contamination Monitoring and Assessment Programme (GEMS/Food).



CEHTRA  
43 rue Laroque  
33560 Sainte Eulalie  
France

Tel (33) 5 57 77 56 10  
Fax (33) 5 57 77 56 20  
[www.cehtra.fr](http://www.cehtra.fr)

# **SPINOSAD**

## **IV-Toxicologie**

**DATE**

**Juillet 2007**

---

## TABLE DES MATIERES

<b>1. Introduction.....</b>	<b>493</b>
<b>2. toxicocinetique .....</b>	<b>493</b>
<b>3. Toxicite aigue .....</b>	<b>495</b>
<b>4. Tolerance locale .....</b>	<b>495</b>
<b>5. Toxicite subchronique .....</b>	<b>495</b>
<b>6. Mutagenicite .....</b>	<b>498</b>
<b>7. etudes de toxicité chronique et de cancerogenicite .....</b>	<b>498</b>
7.1. Etude Combinee de toxicité chronique et de cancerogenicite sur le rat.....	498
7.2. Etude Combinee de toxicité chronique et de cancerogenicite sur la souris.....	499
<b>8. Reproduction et developpement .....</b>	<b>500</b>
8.1. Toxicite pour la Reproduction.....	500
8.2. Teratogenicité.....	501
<b>9. Etude de Neurotoxicite.....</b>	<b>502</b>
<b>10. Effets sur la sante de l'homme.....</b>	<b>502</b>
<b>11. Selection de la DSEIO et des facteurs de securite pour l'evaluation des risques pour les operateurs ou les accompagnants et personnes presentes.....</b>	<b>502</b>
11.1. Selection de la DSEIO la plus pertinente .....	502
11.2. Selection des facteurs de securité les plus pertinents.....	504
<b>12. conclusion generale sur la toxicité de la matiere active.....</b>	<b>504</b>

## 1 INTRODUCTION

Dans cette section, les résultats des études et les propriétés toxicologiques de la substance active sont présentés et la dose sans effet indésirable observé la plus pertinente est estimée à partir de l'ensemble des résultats expérimentaux présentés. Cette dose de référence ainsi et les facteurs de sécurité dérivés sont sélectionnés en fonction de leur pertinence pour évaluer les risques pour les opérateurs ou les accompagnants et personnes présentes pendant les phases d'application.

Ces risques seront présentés dans la section suivante pour les phases d'application de produit contenant du spinosad dans les conditions susceptibles d'être utilisées à la Réunion pour lutter contre le vecteur du virus du Chikungunya.

Cette évaluation des effets toxicologiques est une synthèse des documents de revue préalablement rédigés par les organismes officiels. Les rapports primaires d'étude n'ont pas été revus par les rédacteurs de ce document.

Les résultats des études de toxicologie sont présentés de manière exhaustive, tels que rapportés dans les revues des organismes officiels.

Le profil toxicologique du spinosad présenté dans ce document a été effectué essentiellement à partir de la revue des études de toxicologie par l'Organisation Mondiale de la Santé (WHO, 2005) réalisées avec du spinosad contenant les spinosyne A et spinosyne D, à 771 g/kg et à 122 g/kg, respectivement.

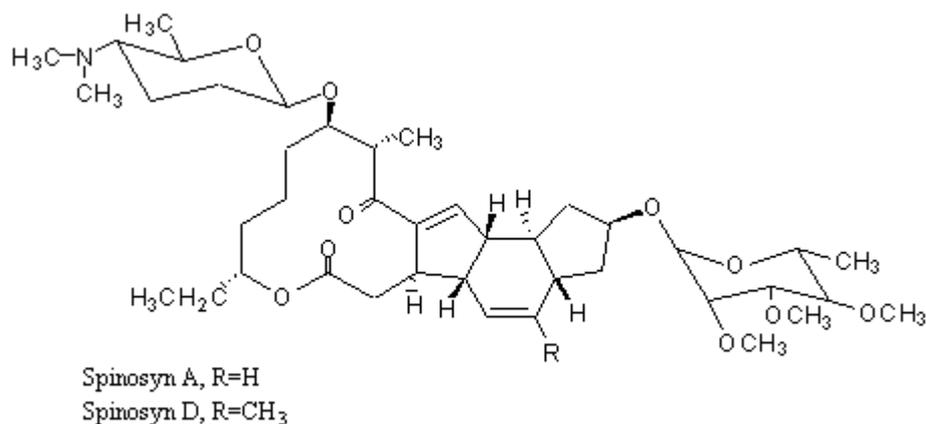


Figure IV.1. Structure des spinosynes A et D

## 2 TOXICOCINETIQUE

### **Absorption, distribution, excrétion et métabolisme**

Plusieurs études ont été conduites afin d'évaluer les profils d'absorption, de distribution, d'excrétion et de métabolisme du spinosad chez le rat. Dans ces études, réalisées selon les exigences BPL et de la ligne directrice OCDE 417, on a administré aux rats par gavage soit une dose unique de [<sup>14</sup>C]spinosyne A à 10 ou 100 mg/kg pc/j, soit des doses répétées de 10 mg/kg pc/j pendant 15 jours, ou une dose unique de [<sup>14</sup>C]spinosyne D à 100 mg/kg pc/j

(Domoradzki *et al.*, 1995; Thalaker, 1996; Mendrala *et al.*, 1995a et 1995b dans IPCS INCHEM, 2001).

La pénétration transcutanée a été étudiée en appliquant du [<sup>14</sup>C]Spinosyne A dans du dipropylène glycol à une dose de 50 mg/kg pc (10 mg/cm<sup>2</sup>) sur la peau rasée de rats Fischer 344 sous pansement occlusif pendant 24 h, puis les animaux ont été sacrifiés. L'étude a été conduite selon les exigences BPL et des lignes directrices pour l'évaluation des pesticides de l'US EPA (Section 85-1) (Domoradzki & Shabrang, 1996 dans IPCS INCHEM, 2001).

Les paramètres pharmacocinétiques et le métabolisme des deux principaux constituants du spinosad, les spinosynes A et D, sont très similaires.

L'administration orale du spinosyne A ou D à des rats a entraîné une rapide absorption de ces substances mais incomplète (> 70 % de la dose).

Dans l'étude de pénétration transcutanée, approximativement 94 à 95 % de la dose administrée ont été retrouvés, mais 1 % a été absorbé, comme déterminé à partir des quantités mesurées dans les urines, les selles, la carcasse, les tissus et l'air expiré. Un second groupe a été traité de manière similaire, mais, après 24 h de traitement, le site d'administration a été nettoyé puis recouvert avec des bandages renouvelés pendant 120 h, puis les animaux ont été sacrifiés. Environ 2 % de la dose appliquée ont été absorbés, et 93 à 94 % ont été retrouvés.

Selon la base de données française Agritox (dernière mise à jour du 28 juin 2006) (AFSSA, 2006), basée sur plusieurs études disponibles de pénétration cutanée réalisées avec des préparations SC, les facteurs d'absorption cutanée ont été définis à 0,1 et 2 %, respectivement pour le produit concentré et pour le produit dilué. En considérant que ces données ont été revues rigoureusement par les autorités françaises, il est proposé d'utiliser ces valeurs de facteurs d'absorption pour l'évaluation des risques pour les opérateurs.

Après absorption, le spinosyne A est distribué dans les reins, le foie, les graisses et dans la thyroïde à forte dose; le spinosyne D est distribué dans les graisses principalement.

La conjugaison avec le glutathion, soit directement ou après O- ou N-déméthylation, a été identifiée comme la voie majeure du métabolisme.

L'élimination s'est déroulée principalement dans les selles (70 à 90 %) via la bile, et moins de 10 % ont été retrouvés dans les urines. La majorité de la radioactivité administrée a été retrouvée dans les 24 h suivant l'administration.

Le schéma du métabolisme proposé des spinosynes A et D chez le rat est présenté en figure IV.2.

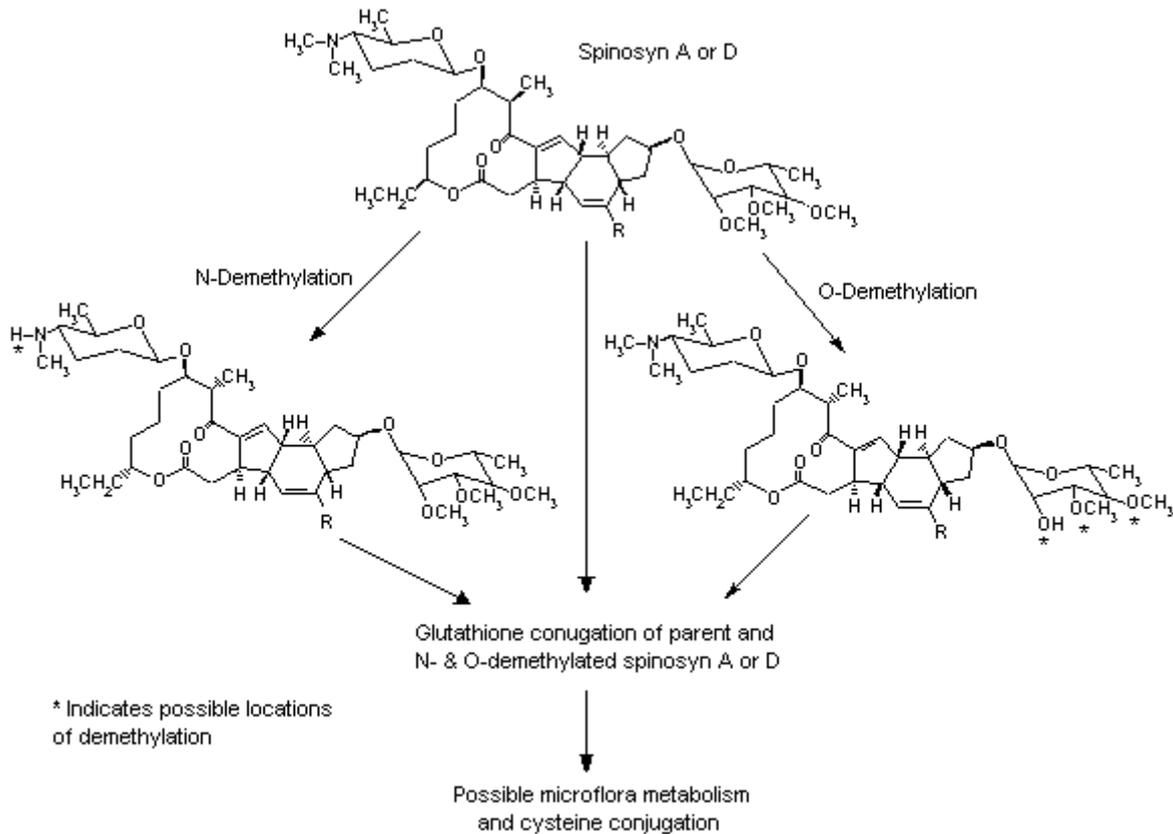


Figure IV.2. Métabolisme proposé pour les spinosynes A et D (IPCS INCHEM, 2001)

### 3 TOXICITE AIGUE

Le spinosad a une faible toxicité aiguë avec des valeurs de  $DL_{50}$  orale et cutanée, respectivement de  $> 3\,700$  et  $> 5\,000$  mg/kg pc, et une valeur de  $CL_{50}$  par inhalation  $> 5,18$  mg/L (voir annexe 1) (WHO, 2005).

### 4 TOLERANCE LOCALE

Le spinosad est faiblement irritant pour les yeux (réaction de faible intensité pour une période transitoire: ne nécessite pas de classification comme substance irritante pour les yeux selon la Directive 67/548/CEE) sur lapin (essai selon ligne directrice CE méthode B.5) et n'est pas irritant pour la peau sur lapin (essai selon ligne directrice OCDE 404). Le composé n'est pas sensibilisant pour la peau sur cobaye (essais Buehler selon ligne directrice OCDE 406 et Magnusson et Kligman selon ligne directrice CE méthode B.6) (WHO, 2005).

### 5 TOXICITE SUBCHRONIQUE

Toutes les études présentées ont été conduites selon les principes BPL et les lignes directrices OCDE appropriées.

On a administré à des groupes de 10 souris CD-1 de chaque sexe du spinosad à des concentrations de 0, 50, 150, 450 ou 1 200 ppm dans la nourriture pendant 3 mois (Grothe *et al.*, 1992a dans WHO, 2005 ; IPCS INCHEM, 2001).

Trois mâles et 2 femelles à 1 200 ppm sont morts avant le jour 44 à cause de nécroses hépatiques, et les animaux restants ont perdu environ 25% de leur poids initial à cette dose, ont présenté une cachexie et ont eu une anémie hypochrome légère à modérée et une hyperleucocytose neutrophile marquée. Une vacuolisation des cellules lymphoïdes, des nécroses et/ou histiocytoses ont été décrits dans le foie et les ganglions lymphatiques des souris à 150 ppm, dans le thymus à 450 ppm et dans le système lymphoïde du tube digestif à 1 200 ppm; les changements dans le foie et les ganglions lymphatiques ont été accompagnés d'une augmentation de taille à 1 200 ppm. Dans les reins, les vacuoles cytoplasmiques observées dans le cortex à 150 ppm ont été associées avec des réseaux de cellules régénératrices du cortex aux doses  $\geq$  450 ppm, reflétant une dégénérescence vacuolaire. Une inflammation aiguë ou chronique a été observée à 1 200 ppm. Les effets hépatiques ont consisté en une vacuolisation des cellules chez les femelles à des doses  $\geq$  150 ppm et chez les mâles à 1 200 ppm, en une cytomégalie centrolobulaire chez les mâles aux doses  $\geq$  150 ppm, des réactions inflammatoires chez les femelles à  $\geq$  450 ppm et chez les mâles à 1 200 ppm, des changements granulomateux chez les femelles à 450 ppm et des nécroses sévères à 1 200 ppm.

**La DSEIO (Dose sans effet indésirable observé) est 50 ppm, égale à 6 mg/kg pc par jour, sur la base des multiples altérations histologiques à 150 ppm.**

On a administré à des groupes de 10 mâles et 10 femelles rats Fischer 344 du spinosad à des concentrations de 0, 120, 600 ou 1 000 ppm dans la nourriture pendant 13 semaines (Yano & Liberacki, 1999 dans WHO, 2005 ; IPCS INCHEM, 2001).

A 1000 ppm, des augmentations, statistiquement significatives, en teneur en protéine totale (< 8 %) et en albumine (< 6 %) ont été observées dans les deux sexes, et les activités alanine- et aspartate-aminotransférase ont été statistiquement augmentées chez les mâles (de 50–60%) et non statistiquement chez les femelles (de 50 %). Dans les 2 sexes à 1 000 ppm, les poids absolus et relatifs de la thyroïde ont été significativement augmentés. Chez les femelles à 600 et 1 000 ppm, des augmentations significatives du poids du foie, de la rate, du cœur et des reins ont été observées, et chez les femelles à 1 000 ppm les poids des glandes surrénales ont été significativement augmentés. Les animaux de chaque sexe ont eu du matériel aqueux dans les tubes caecaux à 600 et 1 000 ppm. Les effets histologiques liés au traitement (vacuolisation et agrégation cellulaires) n'ont été observés qu'aux 2 plus fortes doses et impliquaient la thyroïde, la rate, les ganglions lymphatiques, le foie (femelles), les reins (mâles) et l'estomac (femelles).

**La DSEIO est 120 ppm, égale à 7,7 mg/kg pc par jour.**

On a administré à des groupes de 10 rats Fischer 344 de chaque sexe du spinosad à des concentrations nominales de 0, 30, 60, 120 ou 600 ppm dans la nourriture pendant 13 semaines. Deux groupes satellites de 10 rats de chaque sexe à 0 ou 600 ppm, auxquels on a administré de la nourriture normale pendant 4 semaines, ont été étudiés puis sacrifiés (Yano & Bond, 1994 dans WHO, 2005 ; IPCS INCHEM, 2001).

Les poids absolus et relatifs du cœur et du foie des mâles à 600 ppm ont été légèrement mais statistiquement significativement augmentés de 10 et 6 %, respectivement. Les poids absolus du cœur et de la rate ont été significativement augmentés chez les femelles de 9 % chacun. Les poids des organes n'ont plus été affectés par le traitement après la période de récupération. Les observations histopathologiques ont été confinées à une légère vacuolisation et une augmentation de volume des cellules épithéliales des follicules de la thyroïde des mâles à 600 ppm. La sévérité, et non l'incidence, de la vacuolisation des cellules épithéliales a été partiellement réversible pendant la période de récupération.

**La DSEIO est 120 ppm, égale à 8,6 mg/kg pc par jour.**

On a administré à des groupes de 4 chiens Beagle de chaque sexe du spinosad à des concentrations nominales de 0, 150, 300 ou 900 (femelles)/1 350 (mâles) ppm dans la nourriture pendant 13 semaines (Harada, 1994 dans WHO, 2005 ; IPCS INCHEM, 2001).

La concentration la plus haute a été réduite de 1 350 à 900 ppm chez les mâles à partir du jour 38 car un mâle dans ce groupe a été sacrifié *in extremis* semaine 5 après avoir montré des signes d'activité réduite et une perte de poids. Deux mâles (incluant celui qui fut euthanasié) à 900/1 350 ppm ont eu du sébum péri-oculaire et des selles noires liquides. Les mêmes selles ont été observées chez les femelles à 900 ppm. Des observations hématologiques et biochimiques ont été réalisées chez les mâles et les femelles du groupe à la plus forte dose.

**La DSEIO est 150 ppm, égale à 4,9 mg/kg pc par jour**, sur la base des multiples altérations histopathologiques observées aux concentrations plus élevées.

On a administré à des groupes de 4 chiens Beagle de chaque sexe de la nourriture contenant du spinosad pendant 12 mois. La concentration dans la nourriture était de 0, 50, 100 or 300 ppm de la semaine 1 à la semaine 13, puis la quantité de nourriture a été diminuée de 300 g/chien par jour à 250 g/chien par jour; ainsi, la concentration de spinosad dans la nourriture a été augmentée à 0, 60, 120 et 360 ppm à partir de la semaine 14 jusqu'à la semaine 52 pour compenser la diminution de prise de nourriture (Harada, 1995 dans WHO, 2005 ; IPCS INCHEM, 2001).

Les effets ont été observés à 300/360 ppm seulement. Une augmentation de la teneur en triglycérides et de l'activité aspartate aminotransférase ont été observés chez les mâles en semaine 26. L'activité alanine aminotransférase a été augmentée (non significativement) chez les mâles en semaines 26 et 52. Le poids relatif de la thyroïde a été légèrement augmenté chez les mâles (12 %) et significativement augmenté chez les femelles (55 %). Des agrégats de cellules vacuolisées ont été observés dans la rate, dans certains ganglions lymphatiques dans les deux sexes et dans l'ileum, le caecum, le colon et le rectum des mâles.

**La DSEIO est 100 ppm, égale à 2,7 mg/kg pc par jour**, sur la base de la vacuolisation cellulaire de certains tissus et les altérations biochimiques observées à 300/360 ppm.

## 6 MUTAGENICITE

Le spinosad a donné des résultats négatifs dans un nombre adéquat de tests de mutagenicité *in vivo* (test du micronoyau chez la souris) et *in vitro* (test d'Ames, mutations géniques TK, essai cytogénétique, essai de synthèse non programmée de l'ADN) :

Tableau IV.1 : Résultats des études de mutagenicité

Espèces/Système cellulaire	Tests	Conditions	Résultat	Référence
<i>S. typhimurium</i> TA98, TA100, TA1535, TA1537 et <i>E. coli</i> WP2uvrA	Test d'Ames	50 à 5 000 µg/plate (avec ou sans S9)	Négatif	WHO, 2005 ; IPCS INCHEM, 2001
Cellules de lymphomes de souris L5178Y	Mutations géniques TK	1 à 50 µg/mL (avec ou sans S9)	Négatif	WHO, 2005 ; IPCS INCHEM, 2001
Cellules ovariennes de hamster chinois	Essai cytogénétique	20 à 100 µg/mL (avec ou sans S9)	Négatif	WHO, 2005 ; IPCS INCHEM, 2001
Hépatocytes de rat	synthèse non programmée de l'ADN	0,1 à 5 µg/mL	Négatif	WHO, 2005 ; IPCS INCHEM, 2001
Souris	Test du micronoyau <i>in vivo</i>	500, 1 000 et 2 000 mg/kg pc/j	Négatif	WHO, 2005 ; IPCS INCHEM, 2001

## 7 ETUDES DE TOXICITE CHRONIQUE ET DE CANCEROGENICITE

### 7.1 ETUDE COMBINEE DE TOXICITE CHRONIQUE ET DE CANCEROGENICITE SUR LE RAT

On a administré à des groupes de 65 rats Fischer 344 de chaque sexe de la nourriture contenant du spinosad à des concentrations de 0, 50, 200, 500 ou 1 000 ppm pendant 24 mois. Cinquante animaux de chaque sexe par groupe ont reçu du spinosad pendant 2 ans, 10 de chaque sexe par groupe ont été utilisés pour évaluer la toxicité et cinq de chaque sexe par groupe ont été utilisés pour évaluer la neurotoxicité (Bond *et al.*, 1995b dans WHO, 2005 ; IPCS INCHEM, 2001).

En raison des taux élevés de mortalité parmi les contrôles et à 1 000 ppm (28 % contrôles mâle, 30 % contrôles femelle, 88 % mâle et 60 % femelles à 1 000 ppm) en semaines 102 et 62, respectivement, des gains de poids corporels diminués (> 10 à 15 %) à 1 000 ppm et des signes cliniques de toxicité (respiration rapide, apparence maigre, baisse des réserves de graisse), ces groupes ont été arrêtés le jour 714 pour les mâles et le jour 611 pour les femelles. Malgré un nombre statistiquement significatif de changements dans les paramètres hématologiques et biochimiques aux sacrifices intermédiaires, la majorité de ces

observations était minime et n'était plus présente au sacrifice final. Ces effets ont donc été considérés comme accidentels ou transitoires.

Des changements statistiquement significatifs dans les poids d'organe, liés au traitement, ont été observés à 12 mois, consistant en une augmentation des poids absolus et relatifs du cœur (liée à la dose à partir de 500 ppm chez les femelles), du rein, du foie (poids absolus significatifs chez les femelles seulement), la rate et la thyroïde à 1 000 ppm. Une augmentation des poids relatif et absolu des ovaires à des concentrations  $\geq$  500 ppm a été observée, et le poids des surrénales a été augmenté à 1 000 ppm chez les femelles à 12 mois. A 24 mois, les poids relatif et absolu de la thyroïde ont été augmentés dans les deux sexes, et les poids du cœur et des reins ont été augmentés chez les femelles à 500 ppm. Plusieurs régions pâles ont été observées sur les poumons chez 1/10 mâle et 8/10 femelles à 1 000 ppm à 12 mois. Plusieurs lésions histologiques ont été observées : une vacuolisation cellulaire au niveau des reins et de la thyroïde, une inflammation du foie, de la thyroïde et de la prostate, une hématopoïèse extramédullaire au niveau de la rate et une dégénérescence ou régénérescence de la muqueuse de l'estomac. L'incidence et/ou la sévérité des agrégats de cellules réticuloendothéliales a été augmentée dans le larynx, le foie, les ganglions lymphatiques et la rate. A 500 ppm, les incidences de vacuolisation des cellules épithéliales de la thyroïde ont été augmentées dans les deux sexes.

**La DSEIO est 50 ppm, égale à 2,4 mg/kg pc par jour**, sur la base des effets histopathologiques observés aux doses plus élevées.

---

## 7.2 ETUDE COMBINÉE DE TOXICITÉ CHRONIQUE ET DE CANCÉROGENICITÉ SUR LA SOURIS

---

On a administré à des groupes de 70 souris CD-1 de chaque sexe de la nourriture contenant du spinosad à des concentrations de 0, 25, 80 ou 360 ppm pendant 18 mois. Dix animaux par sexe et par groupe ont été sacrifiés à 3 et 12 mois. Les femelles à 360 ppm ont été sacrifiées le jour 455 parce qu'elles avaient une diminution marquée de leur gain de poids, et un nombre très élevé de décès a été observé (Bond *et al.*, 1995a dans WHO, 2005 ; IPCS INCHEM, 2001).

En raison de la mort précoce des femelles à 360 ppm dans cette étude, une deuxième étude de 18 mois a été conduite, dans laquelle on a administré à des groupes de 60 souris CD-1 de chaque sexe de la nourriture contenant du spinosad à une concentration de 0, 8 or 240 ppm. Dix animaux de chaque sexe par groupe ont été tués à 12 mois pour les investigations intermédiaires (Bond *et al.*, 1996 dans WHO, 2005 ; IPCS INCHEM, 2001).

Dans la première étude des effets dus au traitement n'ont été observés qu'à 360 ppm. Les taux de mortalité ont été substantiellement augmentés à la fin de l'étude, étant de 24 % pour le mâle et 18 % pour la femelle chez les contrôles, 35 % pour le mâle et 26 % pour la femelle à 25 ppm, 29 % pour le mâle et 13 % pour la femelle à 80 ppm et 44 % pour le mâle et 60 % pour la femelle à 360 ppm, excédant les limites acceptables pour une dose maximale tolérable. Le gain de poids corporel était inférieur de 10 à 15 % de celui des contrôles, résultant en des poids terminaux significativement inférieurs, et la prise de nourriture a été faiblement diminuée chez les femelles. Des signes cliniques de toxicité (dermatite de l'oreille, larmes, apparence maigre, gorge irritée) ont été observés. A 360 ppm, les paramètres biochimiques tels que les teneurs en albumine, en protéines totales, les concentrations en phosphate et sodium ont été altérées. L'examen histopathologique a montré une vacuolisation cellulaire dans de nombreux tissus à tous les sacrifices programmés (3, 12 et 18 mois); les tissus affectés à tous ou certains des sacrifices programmés ont été le col de l'utérus, les épидидymes, les ganglions lymphatiques mésentériques, les ovaires, le pancréas, la parathyroïde, l'utérus et le vagin.

**La DSEIO est 80 ppm, égale à 11,4 mg/kg pc par jour**, sur la base de multiples altérations histologiques, de changements biochimiques et des effets sur les poids des organes à 360 ppm.

Dans la deuxième étude, les taux de mortalité n'ont pas été affectés par le traitement. Le poids relatif du foie a été significativement augmenté (de 8 à 10%) dans les deux sexes à 18 mois. L'examen macroscopique a révélé un amincissement au niveau de l'estomac à 240 ppm dans les deux sexes. L'examen histopathologique des femelles à 0 et 240 ppm a montré à 240 ppm les mêmes altérations qu'à 360 ppm dans l'étude décrite précédemment, consistant en une histiocytose des ganglions lymphatiques mésentériques, une vacuolisation cellulaire au niveau du pancréas et des parathyroïdes, une hyperplasie des cellules alvéolaires dans les poumons, une myopathie des muscles squelettiques et de la langue et une inflammation et hyperplasie de la muqueuse gastrique.

**Ces résultats supportent la DSEIO de 80 ppm (égale à 11.4 mg/kg pc par jour)** issue de la précédente étude.

Il n'existe pas d'évidence de cancérogénicité pour le spinosad car aucune tumeur observée dans ces études (rats et souris) n'a pu être attribuée au traitement.

## 8 REPRODUCTION ET DEVELOPPEMENT

### 8.1 TOXICITE POUR LA REPRODUCTION

On a administré à des groupes de 30 Sprague-Dawley rats de chaque sexe du spinosad dans la nourriture à des concentrations régulièrement ajustées à 0, 3, 10 or 100 mg/kg pc/jour sur deux générations. Après 10 semaines, les rats  $F_0$  ont été accouplés pour produire des portées  $F_{1a}$ , dont 30 rats de chaque sexe par dose ont été sélectionnés au hasard pour être les parents  $F_1$ . Ceux-ci ont été accouplés environ 12 semaines après le sevrage de la dernière portée; les animaux  $F_{1a}$  sélectionnés ont été accouplés pour produire des portées  $F_2$ . Une semaine après le sevrage des portées  $F_{1a}$ , les parents  $F_0$  ont été une nouvelle fois accouplés pour produire des portées  $F_{1b}$ . Toutes les portées ont été ramenées à 4 individus de chaque sexe dans la mesure du possible le jour 4 *post partum* (Breslin *et al.*, 1994 dans WHO, 2005 ; IPCS INCHEM, 2001).

Les effets liés au traitement sur les animaux parents n'ont été observés qu'à la dose de 100 mg/kg pc par jour. Les signes cliniques ont consisté en une augmentation de salissure périnéale et de saignement vaginal pendant la période de lactation des rats  $F_{1a}$  et  $F_2$ , et les femelles  $F_1$  ont aussi présenté une incidence accrue de dystocie. Le gain de poids corporel des mâles  $F_0$  a été significativement réduit (6 %), le poids corporel des mères  $F_0$  pendant la gestation a été significativement réduit, et les gains de poids corporel pendant la parturition et la fin de la lactation des rats  $F_{1a}$  et  $F_{1b}$  ont été environ 16% plus bas que ceux des contrôles. A 100 mg/kg pc par jour, le nombre de rats nés vivants a été significativement réduit de 20 à 35 % dans toutes les portées de toutes les générations parentales ( $F_{1a}$ ,  $F_{1b}$  et  $F_2$ ), et le poids corporel des rats était 8 à 12 % inférieur à celui des contrôles les jours 14 et 21 de lactation (significativement le jour 21 seulement).

Les poids relatifs du cœur, du rein, du foie, de la rate et de la thyroïde ont été significativement augmentés chez les parents  $F_0$  et  $F_1$  à 100 mg/kg pc/j. Macroscopiquement, une incidence accrue de régions pâles a été observée dans les poumons des adultes  $F_0$ , deux animaux  $F_0$  ont eu des foetus résorbés ou morts, et l'incidence de contenus liquides dans les tubes caecaux a été accrue chez les adultes  $F_1$ . Histologiquement, une augmentation de la sévérité mais pas de l'incidence a été observée pour les paramètres suivants: dégénérescence avec ou sans inflammation au niveau du

coeur, dégénérescence ou régénérescence tubulaire dans les reins, histiocytose des ganglions lymphatiques mésentériques, et vacuolisation des cellules épithéliales de la thyroïde.

Les observations cliniques des rats  $F_{1a}$  et  $F_2$  étaient secondaires aux effets maternels. Les effets observés chez les rats de la génération  $F_{1a}$  à 10 mg/kg pc par jour ont été presque entièrement confinés à une portée, dans laquelle tous les rats ont été affectés et tous sont morts au jour 2 suivant la naissance. Il est probable que les effets observés chez les rats à 100 mg/kg pc par jour étaient secondaires à la toxicité maternelle plutôt que des effets directs sur les rats.

**La DSEIO de toxicité parentale est 10 mg/kg pc par jour** sur la base des effets cliniques de toxicité, gain de poids corporel réduit, effets sur les poids des organes les altérations histologiques multiples à 100 mg/kg pc par jour. **La DSEIO des effets sur la reproduction est 10 mg/kg pc par jour** sur la base de la diminution de la taille des portées à 100 mg/kg pc par jour.

---

## 8.2 TERATOGENICITE

---

On a administré à des groupes de 30 rats femelles Sprague-Dawley gestantes du spinosad sous forme de suspension dans une solution aqueuse de 500 ppm méthyl cellulose par gavage entre les jours 6 et 15 de la gestation à des doses de 0, 10, 50 or 200 mg/kg pc par jour (Liberacki *et al.*, 1993 dans WHO, 2005 ; IPCS INCHEM, 2001).

Le poids corporel maternel moyen a été significativement diminué (10 %) à 200 mg/kg pc par jour pendant la période de traitement mais était similaire à celui des contrôles pendant la période entière de gestation en raison de la prise de poids compensatoire en cessation de traitement.

Les examens du squelette et des viscères des fœtus ont révélé une augmentation légère et équivoque dans les incidences en ossification retardée des vertèbres dans les fœtus et les portées à des doses  $\geq 50$  mg/kg pc par jour. Une microphthalmie, une malformation relativement rare, a été observée sur un fœtus à 50 mg/kg pc par jour (0,4 %) et deux ont été observées à 200 mg/kg pc par jour (0,8 %) dans les différentes portées. Ces observations anormales sur le développement ont été discutées et n'ont pas été considérées comme étant liées au traitement.

**La DSEIO de toxicité maternelle est 50 mg/kg pc par jour** sur la base d'une diminution du gain de poids corporel à 200 mg/kg pc par jour.

**La DSEIO des effets sur le développement est 200 mg/kg pc par jour** (concentration testée la plus élevée) en l'absence d'effets significatifs liés au traitement observés sur le fœtus à cette dose.

On a administré à des groupes de 20 lapines New Zealand gestantes du spinosad sous forme de suspension dans une solution aqueuse de 500 ppm méthyl cellulose par gavage à des doses de 0, 2,5, 10 or 50 mg/kg pc par jour entre les jours 7 et 19 de la gestation (Vedula *et al.*, 1994 dans WHO, 2005 ; IPCS INCHEM, 2001)).

Le gain de poids corporel maternel a été 30 % inférieur à celui des contrôles à la fin du traitement. Deux mères à la plus forte dose ont avorté les jours 22 et 27 de la gestation et ont été sacrifiées. Il n'y a pas eu d'effet lié au traitement pour aucun autre des paramètres évalués.

**La DSEIO de toxicité maternelle est 10 mg/kg pc par jour** sur la base d'une diminution du gain de poids corporel et des avortements à 50 mg/kg pc par jour.

**La DSEIO de toxicité sur le fœtus et l'embryon est 50 mg/kg pc par jour** (concentration testée la plus élevée) en l'absence d'effets significatifs liés au traitement observés sur le fœtus à cette dose.

## 9 ETUDE DE NEUROTOXICITE

Une évaluation de la neurotoxicité a été réalisée dans une étude de 13 semaines. On a administré à des groupes de 10 rats Fischer 344 de chaque sexe de la nourriture contenant du spinosad à des concentrations de 0, 30, 60, 120 ou 600 ppm, 7 jours par semaine pendant 13 semaines (Wilmer *et al.*, 1993 dans IPCS INCHEM, 2001). L'étude a été conduite en accord avec les exigences BPL et la ligne directrice FIFRA 82-7. Une batterie d'essais d'observations fonctionnelles et d'activités motrices a été réalisée sur 10 animaux de chaque sexe par groupe avant traitement et mensuellement pendant le traitement. A 13 semaines, les systèmes nerveux centraux et périphériques de cinq animaux de chaque sexe par groupe ont été évalués. Aucun effet lié au traitement n'a été observé à aucune dose. **La DSEIO est 600 ppm, égale à 43 mg/kg pc par jour.**

Dans l'étude de toxicité à long terme et de cancérogénicité de chez les rats Fischer, décrite en section 6.1 (Bond *et al.*, 1995b dans WHO, 2005 ; IPCS INCHEM, 2001), des groupes satellites de 10 rats de chaque sexe par groupe ont été évalués pour des signes de neurotoxicité liés au traitement (Spencer & Yano, 1995). A 12 mois, Une batterie d'essais d'observations fonctionnelles et d'activités motrices a été réalisée avant traitement puis à 3, 6, 9 et 12 mois. A 12 mois, les systèmes nerveux centraux et périphériques de cinq animaux de chaque sexe dans le groupe contrôle et à la plus haute dose ont été évalués. Les seuls effets potentiellement liés au traitement ont été une augmentation de l'incidence de très légères hyperplasies de la partie antérieure de l'hypophyse chez les mâles (chez 0/5 contrôle et 2/5 à 1000 ppm) et une très légère dégénérescence des fibres individuelles du nerf trijumeau dans les deux sexes (chez 1/5 contrôles mâles, 3/5 mâles à 1000 ppm, 0/5 femelle contrôles, 3/5 femelles à 1000 ppm). En raison de la faible intensité de ces observations, l'absence de déficit fonctionnel chez ces animaux ainsi que chez ceux de l'étude principale, et l'absence d'altérations similaires dans les autres tissus neurologiques, ces observations n'ont pas été considérées comme liées au traitement. **La DSEIO est 1000 ppm, égale à 49 mg/kg pc par jour.**

## 10 EFFETS SUR LA SANTE DE L'HOMME

Aucune étude de ce type n'a été conduite avec du spinosad.

## 11 SELECTION DE LA DSEIO ET DES FACTEURS DE SECURITE POUR L'EVALUATION DES RISQUES POUR LES OPERATEURS OU LES ACCOMPAGNANTS ET PERSONNES PRESENTES

### 11.1 SELECTION DE LA DSEIO LA PLUS PERTINENTE

Plusieurs types d'effets ont été observés à la fois dans les études long terme et court terme en utilisant des doses répétées. Ces effets étaient similaires chez la souris, le rat et le chien. La vacuolisation cellulaire au niveau de certains tissus a été l'effet observé le plus régulièrement dans ces études, comme le montre le tableau suivant de présentation des résultats des principales études utiles pour dériver la DSEIO la plus pertinente pour l'évaluation des risques pour les opérateurs.

Tableau IV.2 : Résultats des études de toxicité utiles pour dériver le NEAO (Niveau d'exposition acceptable pour l'opérateur)

Voie	Durée	Espèces	DSEIO	DMEIO	Effet	Référence
Orale	13 semaines	rat	7,7 mg/kg pc/j	39,1 mg/kg pc/j	Changements histologiques et biochimiques de la thyroïde, rate, ganglions lymphatiques, foie (f), rein (m) et estomac (f)	WHO, 2005 ; IPCS INCHEM, 2001
Orale	13 semaines	chien	4,9 mg/kg pc/j	9,7 mg/kg pc/j	Vacuolisation des cellules de la rate, ganglions lymphatiques, ileum, caecum, colon, rectum et pancréas	WHO, 2005 ; IPCS INCHEM, 2001
Orale	3 mois	souris	7,5 mg/kg pc/j	22,5 mg/kg pc/j	Vacuolisation des cellules de la rate, ganglions lymphatiques, reins	WHO, 2005 ; IPCS INCHEM, 2001
Orale	12 mois	chien	2,7 mg/kg pc/j	8,2 mg/kg pc/j	Vacuolisation des cellules et changements biochimiques des ganglions lymphatiques, parathyroïdes, poumons, muscles squelettiques et pancréas	WHO, 2005 ; IPCS INCHEM, 2001
Orale	18 mois	souris	11,4 mg/kg pc/j	32,7 mg/kg pc/j	Histiocytose des ganglions lymphatiques mésentériques, vacuolisation des cellules des parathyroïdes et du pancréas, agrégats de macrophages alvéolaires et hyperplasie de cellules alvéolaires dans les poumons, les muscles squelettiques et hyperplasie de la muqueuse gastrique	WHO, 2005 ; IPCS INCHEM, 2001
Orale	2 ans	rat	2,4 mg/kg pc/j	11,4 mg/kg pc/j	Inflammation des poumons et vacuolisation des cellules épithéliales de la thyroïde	WHO, 2005 ; IPCS INCHEM, 2001

Le chien est l'espèce la plus sensible aux effets toxiques du spinosad. Un lien est supposé entre la vacuolisation des cellules chez la souris, le rat et le chien, et la phospholipidose, état supposé provenir de l'accumulation de lysosomes polaires. La vacuolisation observée au microscope optique correspond à une accumulation d'inclusions lamellaires cytoplasmiques à l'intérieur des lysosomes.

On estime que les opérateurs peuvent être exposés plusieurs jours par semaine pendant plusieurs semaines, voire quelques mois, en cas de lutte contre les vecteurs de propagation d'une épidémie. Les résultats obtenus lors des études de toxicité sub-chronique sont donc les études considérées les plus pertinentes pour dériver la DSEIO à utiliser pour l'évaluation des risques pour les opérateurs.

Parmi les espèces testées pendant 90 jours, l'espèce la plus sensible a été le chien. La DSEIO dérivée de cette étude est 4,9 mg/kg pc basée sur l'observation d'une augmentation

du poids de la thyroïde et la vacuolisation cellulaire au niveau de certains tissus à 9,7 mg/kg pc/j. Cette valeur devrait être considérée comme pertinente pour l'évaluation des risques pour les opérateurs car les effets observés, notamment la vacuolisation cellulaire au niveau de certains tissus, sont des effets communément observés par administration répétée du spinosad.

## 11.2 SELECTION DES FACTEURS DE SECURITE LES PLUS PERTINENTS

Tableau IV.3 : Facteurs de sécurité pour le calcul des marges de sécurité

Facteurs de sécurité	Valeur
Interespèce	10 Pas d'étude disponible chez l'homme.
Intraespèce	5 (Les travailleurs sont considérés comme constituant une population plus homogène que le Grand Public. Bien qu'il n'y ait pas d'indication qu'une partie de la population soit plus sensible qu'une autre au spinosad, un facteur de 10 peut être utilisé pour la personne présente)
Durée d'exposition	2 (La DSEIO a été dérivée à partir d'une étude de 90 jours, qui est supposée correspondre à une période maximale d'application, mais cette durée pourrait être exceptionnellement excédée dans le cas d'une lutte particulièrement longue contre les vecteurs de propagation d'une épidémie ; dans le cas du spinosad, ce facteur de 2 est considéré suffisant car la toxicité du spinosad sur le chien augmente de moins d'un facteur 2 quand on passe d'une administration de 90 jours à une administration d'un an)
Extrapolation d'une voie à une autre	1 (pris en compte par l'absorption cutanée)
Qualité de la base de données	1 (seuls les résumés étaient disponibles, mais issus d'études BPL revues rigoureusement)
Marges de sécurité de référence	100

## 12 CONCLUSION GENERALE SUR LA TOXICITE DE LA MATIERE ACTIVE

Le spinosad possède une toxicité aiguë faible. Cette substance n'est ni irritante, ni sensibilisante pour la peau et est faiblement irritante pour les yeux. Cette substance n'est

considérée ni mutagène, ni cancérigène. Une diminution de la taille des portées a été observée dans l'étude présentée de toxicité pour la reproduction sur 2 générations. Cet effet n'ayant été observés qu'à des doses entraînant une toxicité chez la mère, le spinosad n'est pas considéré comme toxique pour la reproduction ; le spinosad n'est pas considéré comme tératogène.

Par administration répétée chez le rat, la souris ou le chien, la vacuolisation cellulaire au niveau de plusieurs tissus liée à des phénomènes de phospholipidose a été identifiée comme le principal effet toxique attribuable au traitement au spinosad aux doses les moins élevées. La valeur de la Dose Sans Effet Indésirable Observé la plus pertinente pour évaluer les risques pour les opérateurs ou les accompagnants et personnes présentes a été établie à 4.9 mg/kg pc/j (étude de 90 jours sur chien par voie orale) et la marge de sécurité à 100.

---

## LISTE DES REFERENCES

**Partie I:** Liste des revues issues des organismes officiels et utilisées pour la constitution de ce document :

- AFSSA (2006) Base de données Agritox : <http://www.dive.afssa.fr/agritox/>
- Agence de Réglementation de la lutte anti-parasitaire (ARLA) (2001) Spinosad - Insecticide SUCCESS® 480SC Naturalyte - Insecticide CONSERVE® 480SC Naturalyte.
- Agritox (2006) SPINOSAD.
- IPCS INCHEM (2001) Pesticide residues in food – Toxicological evaluations for spinosad. Ref: JMPR 2001.
- U.S. EPA (2006) Spinosad Pesticide Tolerance, Vol. 67, No. 45, 11519-11526 – 08/03/2006.
- WHO (2005) Who specifications et evaluations for public health pesticides – SPINOSAD

**Partie II:** liste des références primaires des études citées dans ce document :

- Bond, D.M., Stebbins, K.E. & McGuirk, R.J. (1995a) XDE-105: 18-month dietary oncogenicity study in CD-1 mice. Unpublished report No. DR-0323-1194-006(1).
- Bond, D.M., Yano, B.L., Stebbins, K.E. & McGuirk, R.J. (1995b) DE-105: Two-year chronic toxicity, chronic neurotoxicity et oncogenicity study in Fischer 344 rats.
- Bond, D.M., Stebbins, K.E. & McGuirk, R.J. (1996) XDE-105: 18-month dietary oncogenicity study in CD-1 mice. Unpublished report No. DR-0323-1194-006(A).
- Breslin, W.J., Quast, J.F. & Vedula, U. (1994) XDE-105: Two-generation dietary reproduction study in Sprague-Dawley rats. Unpublished reports Nos DR-0323-1194-008A0, DR-0323-1194-008W2, DR-0323-1194-008LO, DR-0323-1194-008P2, DR-0323-1194-008W1, DR-0323-1194-008L2, DR-0323-1194-008L1, DR-0323-1194-008W3 et DR-0323-1194-008.
- Domoradzki, J.Y., Stewart, H.S., Gilbert, J.R. & Markham, D.A. (1995) XDE-105 (factor A): Metabolism and distribution of <sup>14</sup>C labelled XDE-105 (factor A) in Fischer 344 rats. Unpublished report No. DECO-HET-DR-0323-1194-012. Submitted to WHO by Dow AgroSciences, Letcombe, United Kingdom.
- Domoradzki, J.Y. & Shabrang, S.N. (1996) Spinosyn A: Probe study dermal absorption of <sup>14</sup>C-labelled spinosyn A in Fischer rats. Unpublished report No. DR-0323-1194-029. Submitted to WHO by Dow AgroSciences, Letcombe, United Kingdom.
- Garriott, M.L., Rexroat, M.A. & Grothe, D.W. (1992a) The effect de XDE-105 on the induction de reverse mutations in *Salmonella typhimurium* et *Escherichia coli* using the Ames test. Unpublished reports Nos 910820AMS3162, 910917AMS3162, 910924AMS3162.
- Garriott, M.L., Michaelis, K.C. & Grothe, D.W. (1992b) The effect de XDE-105 on the induction de forward mutation at the thymidine kinase locus de L5178Y mouse lymphoma cells. Unpublished report No. 910910MLA3162.
- Garriott, M.L., Kindig, D.E.F. & Grothe, D.W. (1992c) The effect de XDE-105 on the *in vitro* induction de chromosome aberrations in Chinese hamster ovary cells.

- Unpublished reports Nos 910918CAB3162, 911009CAB3162 from Toxicology Research Laboratories, Lilly Research Laboratories. Greenfield, Indianapolis, USA.
- Garriott, M.L., Yount, D.J. & Grothe, D.W. (1992d) The effect de XDE-105 on the induction de unscheduled DNA synthesis in primary cultures de adult rat hepatocytes. Unpublished reports Nos 910806UDS3162, 910827UDS3162.
  - Garriott, M.L., Brunny, J.D., Kindig, D.E.F. & Grothe, D.W. (1992e) The effect de XDE-105 on the *in vivo* induction de micronuclei in bone marrow de ICR mice. Unpublished reports Nos 910916MNT3162, 911007MNT3162.
  - Gilbert, K.S (1994) XDE-105: Acute dermal toxicity study in New Zealet white rabbits. Unpublished report No. DR-0323-1194-017D1.
  - Gilbert, K.S. & Yano, B.L. (1996) DE-105: Acute oral toxicity study in Fischer 344 rats et CD-1 mice. Dow Chemical Co., Midlet, Michigan, USA, 6 March 1996, DR-0323-1194-031.
  - Gilbert, K.S., Johnson, K.A. & Stebbins, K.E. (1994) XDE-105: Acute oral toxicity study in Fischer 344 rats et CD-1 mice. Unpublished reports Nos DR-0323-1194-017A, DR-0323-1194-017R, DR-0323-1194-017M.
  - Grothe, D.W., Boss, S.M. & Gries, C.L (1992) A subchronic toxicity study in CD-1 mice administered XDE-105 in the diet for 3 months. Unpublished report No. M01290
  - Harada, T. (1994) XDE-105: 13-Week Oral Subchronic Toxicity Study in Dogs, Dow Chemical Japan Ltd., Shinagawa-ku, Tokyo 140, Japan, Unpublished report No IET 91-0079, 01 September 1994.
  - Harada, T. (1995) DE-105: 12-month oral chronic toxicity study in dogs. Unpublished report No. DR-0323-1194-021 (IET 91-0080), from Institute de Environmental Toxicology, Tokyo, Japan.
  - Laska D.A., Rock G.L. & Grothe D.W. (1992) A 2-week acute dermal irritation et toxicity study in New Zealet white rabbits following a single topical application et 24 hour exposure de XDE-105. Toxicology Research Laboratories, Greenfield, Indianapolis, USA, 23 July 1992. Unpublished report, Laboratory Project ID.: B06891.
  - Liberacki, A.B., Breslin W.J. & Yano, B.L. (1993) XDE-105: Oral gavage teratology study in Sprague-Dawley rats. Unpublished report No. DR-0323-1194-003.
  - Mendrala, A.L., Gilbert, J.R., Stewart, H.S. & Domoradzki, J.Y. (1995a) XDE-105 (factor D): Metabolism and tissue distribution of <sup>14</sup>C-labelled XDE-105 (factor D) in Fischer 344 rats. Unpublished report No. DECO-HET-DR-0335-0070-00. Submitted to WHO by Dow AgroSciences, Letcombe, United Kingdom.
  - Mendrala, A.L., Gilbert, J.R., Stewart, H.S. & Domoradzki, J.Y. (1995b) Bile elimination of XDE-105 (factor D) in Fischer 344 rats. Unpublished report No. DECO-HET-DR-0335-0070-002. Submitted to WHO by Dow AgroSciences, Letcombe, United Kingdom.
  - Spencer, P.J. & Yano, B.L. (1995) XDE-105: Chronic neurotoxicity study in Fischer 344 rats. Unpublished report No. DECO-HET-DR-0323-1194-005N.
  - Thalaker, F.W. (1996) Bioaccumulation of <sup>14</sup>C-spinosyn A in female Fischer 344 rats following repeated oral administration of <sup>14</sup>C-spinosyn A. Unpublished report No. DR-0323-1194-043. Submitted to WHO by Dow AgroSciences, Letcombe, United Kingdom
  - Vedula, U. & Yano, B.L. (1994) XDE-105: Probe et 21-day repeated dose dermal toxicity study in New Zealet white rabbits. Unpublished report No. DR-0323-1194-018.
  - Wilmer, J.W., Spencer, P.J., Yano, B.L. & Bond, D.M. (1993) XDE-105: 13-week dietary toxicity, 4-week recovery, et 13-week neurotoxicity studies in Fischer 344 rats (neurotoxicity portion). Unpublished report No. DR-0323-1194-001B.
  - Wolff, R.K., Allen, D.L., Williams, G.D. & Grothe, D.W. (1992) The acute inhalation toxicity in the Fischer 344 rat de technical XDE-105.

- 
- Wright, F.L., Laska, D.A., Poulsen, R.G. & Grothe, D.W. (1992) A 21-day subchronic dermal toxicity study de XDE-105 in New Zealand white rabbits. Unpublished report No. B08491 from Lilly Research Laboratories, Greenfield, Indianapolis, USA.
  - Yano, B.L. & Bond, D.M. (1994) XDE-105: 13-week dietary toxicity et 4-week recovery studies in Fischer 344 rats. Unpublished report No. DR-0323-1194-001A.
  - Yano, B.L. & Liberacki, A.B. (1999) Spinosad (50% spinosyn A et 50% spinosyn D): 13-week dietary toxicity study in Fischer rats. Unpublished report No. DR-0360-3530-001 from School de Veterinary Medicine, University de California, Davis, California, USA.
  - Yano, B.L. & McGuirk, R.J. (1999) Spinosad technical (DE-105): 14-day nose only aerosol inhalation toxicity et 2-week recovery studies in Fischer 344 rats. Unpublished report No. 991021.

**Annexe 1 : Résumé des effets du spinosad issu de l'évaluation de l'OMS (WHO, 2005)**

Voie	Durée	Espèce	DSEIO	DMEIO*	Organe/Effet	Commentaires
<b>Toxicité aiguë</b>						
Orale	unique	rat (m)		> 3 738 mg/kg	DL <sub>50</sub>	DL <sub>50</sub>
Orale	unique	rat (f)		> 5 000 mg/kg	DL <sub>50</sub>	DL <sub>50</sub>
Orale	unique	souris (m)		> 5 000 mg/kg	DL <sub>50</sub>	DL <sub>50</sub>
Orale	unique	souris (f)		> 5 000 mg/kg	DL <sub>50</sub>	DL <sub>50</sub>
Cutanée	unique	lapin		> 5 000 mg/kg	DL <sub>50</sub>	DL <sub>50</sub>
Inhalation	unique	rat		>5,18 mg/L	DL <sub>50</sub>	DL <sub>50</sub>

\*DMEIO : Dose Minimale ayant un Effet Indésirable

Voie	Durée	Espèce	DSEIO	DMEIO	Organe/Effet	Commentaires
<b>Toxicité à doses répétées</b>						
Cutanée	21 jours	lapin	1 000 mg/kg pc/j	-	Irritation cutanée et toxicité systémique	Pas d'effet observé
Inhalation	14 jours 15 jours récupération	rat	9,5 mg/m <sup>3</sup>	-	Toxicité systémique	Pas d'effet observé
Orale	13 semaines	rat	8,6 mg/kg pc/j	42,7 mg/kg pc/j	Follicules thyroïdiens	Vacuolisation des cellules épithéliales
Orale	13 semaines	rat	7,7 mg/kg pc/j	39,1 mg/kg pc/j	Thyroïde, rate, ganglions lymphatiques, foie (f), rein (m) et estomac (f)	Changements histologiques et biochimiques
Orale	13 semaines	chien	4,9 mg/kg pc/j	9,7 mg/kg pc/j	Rate, ganglions lymphatiques, ileum, caecum, colon, rectum et pancreas	Vacuolisation des cellules
Orale	3 mois	souris	7,5 mg/kg pc/j	22,5 mg/kg pc/j	Rate, ganglions lymphatiques, reins	Vacuolisation des cellules
Orale	12 mois	chien	2,7 mg/kg pc/j	8,2 mg/kg pc/j	Rate, ganglions lymphatiques, ileum, caecum, colon, rectum et pancreas	Vacuolisation des cellules et changements biochimiques

Voie	Durée	Espèce	DSEIO	DMEIO	Organe/Effet	Commentaires
Orale	18 mois	souris	11,4 mg/kg pc/j	32,7 mg/kg pc/j	Ganglions lymphatiques, parathyroïdes, poumons, muscles squelettiques et pancréas	Histiocytose des ganglions lymphatiques mésentériques, vacuolisation des parathyroïdes et du pancréas, agrégats de macrophages alvéolaires et hyperplasie de cellules alvéolaires dans les poumons, les muscles squelettiques et hyperplasie de la muqueuse gastrique
Orale	2 ans	rat	2,4 mg/kg pc/j	11,4 mg/kg pc/j	Poumon, thyroïde	Inflammation des poumons et vacuolisation des cellules épithéliales de la thyroïde
Orale	13 semaines	rat	43 mg/kg pc/j	-	Neurotoxicité	Pas d'effet observé sur les systèmes nerveux central et périphérique
Orale	13 semaines	rat	49 mg/kg pc/j	-	Neurotoxicité	Pas d'effet observé sur les systèmes nerveux central et périphérique
Orale	2 générations	rat	10 mg/kg pc/j	100 mg/kg pc/j	Reproduction	Toxicité maternelle a consisté en des signes cliniques de toxicité, diminution du gain de poids corporel, changement du poids des organes et altérations histologiques Toxicité pour la reproduction a consisté en une baisse de la taille des portées
Orale	Jour 6 à 15 de gestation	rat	Maternel: 50 mg/kg pc/j Développement: 200 mg/kg pc/j	Maternel: 200 mg/kg pc/j Développement: -	Tératogénicité	Toxicité maternelle a consisté en une diminution du gain de poids corporel
Orale	Jour 6 à 19 de gestation	lapin	Maternel: 10 mg/kg pc/j Développement: 50 mg/kg pc/j	Maternel: 10 mg/kg pc/j Développement: -	Tératogénicité	Toxicité maternelle a consisté en une diminution du gain de poids corporel et une augmentation de l'incidence des avortements



CEHTRA  
43 rue Laroque  
33560 Sainte Eulalie  
France

Tel (33) 5 57 77 56 10  
Fax (33) 5 57 77 56 20  
[www.cehtra.fr](http://www.cehtra.fr)

## **SPINOSAD**

### **V- Evaluation de l'exposition et du risque pour l'homme**

**DATE**

**Juillet 2007**

## TABLE DES MATIÈRES

<b>Introduction .....</b>	<b>515</b>
<b>1. Scénario 1: Pulvérisateur manuel à pression préalable (5 L).....</b>	<b>517</b>
1.1. évaluation selon le Scénario 1 .....	517
1.2. Conclusion pour le pulvérisateur manuel à pression préalable .....	518
<b>2. Scénario 2: pulvérisateur à jets portés monté sur un Quad ou un véhicule à chenilles sans cabine.....</b>	<b>519</b>
2.1. évaluation selon le Scénario 2 .....	519
2.2. Conclusion pour l'application pneumatique.....	520
<b>3. Scénario 3: Pulvérisateur à jets projetés (lance) monté sur un pick-up à 4 roues motrices .....</b>	<b>521</b>
3.1. évaluation selon le Scénario 3 .....	521
3.2. Conclusion pour le scénario 3 .....	522
<b>4. Scénario 4: Exposition de l'accompagnant et de la personne présente</b>	<b>523</b>
4.1. Pulvérisateur manuel à pression préalable (5 l).....	523
4.2. Pulvérisateur pneumatique à partir d'un Quad ou d'un véhicule à chenilles sans cabine.....	524
4.3. Pulvérisateur à jets projetés monté sur un pick-up à 4 roues motrices .....	525
<b>5. Conclusion générale .....</b>	<b>527</b>
<b>ANNEXE I: Scénario 1: Pulvérisateur à pression préalable (POEM) .....</b>	<b>528</b>
<b>ANNEXE II: Scénario 1: Pulvérisateur à pression préalable (mod. BBA).....</b>	<b>529</b>
<b>ANNEXE III: pulvérisateur à jets portés monté sur un Quad ou un véhicule à chenilles sans cabine (POEM).....</b>	<b>530</b>
<b>ANNEXE IV: pulvérisateur à jets portés monté sur un Quad ou un véhicule à chenilles sans cabine (modèle BBA) .....</b>	<b>531</b>
<b>ANNEXE V: pulvérisateur à jets portés monté sur un Quad ou un véhicule à chenilles sans cabine (modèle PHED) .....</b>	<b>532</b>

**ANNEXE V: pulvérisateur à jets portés monté sur un Quad ou un véhicule à chenilles sans cabine (modèle PHED) - suite .....533**

**ANNEXE VI: Pulvérisateur à jets projetés (lance) monté sur un pick-up à 4 roues motrices (PHED) .....534**

**Annexe VII: Pulvérisateur à jets projetés (lance) monté sur un pick-up à 4 roues motrices (EUROPOEM) .....535**

## INTRODUCTION

Dans cette section, l'évaluation des risques liés à l'utilisation du spinosad sous forme de suspension concentrée est présentée pour les opérateurs ou les accompagnants et personnes présentes dans les conditions prédites d'utilisation à la Réunion pour lutter contre le vecteur du virus du Chikungunya.

La valeur de la Dose Sans Effet Indésirable Observé la plus pertinente pour évaluer les risques pour les opérateurs ou les accompagnants et personnes présentes a été établie à 2.7 mg/kg pc/j (étude de 90 jours sur chien par voie orale) et la marge de sécurité à 100.

Le spinosad est appliqué pour contrôler les larves de moustiques. Le spinosad sera utilisé sous la forme de la formulation SUCCESS® 4 : suspension concentrée (SC) à 120 ou 480 g/L. Cette deuxième concentration sera retenue dans les calculs. La dose recommandée est de 12 à 35 g/ha. L'équipement d'application utilisé pour ces applications est similaire à celui utilisé pour des applications de produits phytopharmaceutiques. Pour cette raison, les modèles dérivés de la technologie agricole seront utilisés.

Les modèles suivants seront utilisés:

### UK POEM:

Ce modèle est construit sur la base d'études conduites au Royaume Uni au début des années 80. Il s'agissait surtout d'études non BPL et les données brutes ne sont plus disponibles. Ce modèle est considéré comme étant très conservateur. Cependant, comme il est reconnu en Europe, les résultats issus de ce modèle seront présentés quand nécessaire pour l'un ou l'autre usage. Les paramètres d'entrée et les chiffres génériques sont détaillés à l'adresse suivante :

[http://www.pesticides.gov.uk/uploadedfiles/Web\\_Assets/PSD/UK\\_POEM1.xls](http://www.pesticides.gov.uk/uploadedfiles/Web_Assets/PSD/UK_POEM1.xls)

### Modèle BBA:

Ce modèle est construit sur la base d'études conduites en Allemagne dans les années 80. Il s'agissait principalement d'études non BPL, mais les données brutes sont toujours disponibles. Ce modèle est considéré comme étant assez conservateur. Cependant, comme il est reconnu en Europe, les résultats issus de ce modèle seront présentés quand nécessaire pour l'un ou l'autre usage. Les paramètres d'entrée et les chiffres génériques sont détaillés à l'adresse suivante :

[http://www.pesticides.gov.uk/uploadedfiles/Web\\_Assets/PSD/German\\_Model\\_PSD1.xls](http://www.pesticides.gov.uk/uploadedfiles/Web_Assets/PSD/German_Model_PSD1.xls)

### EUROPOEM II:

Ce modèle a été construit par une équipe d'universitaires, de régulateurs et d'industriels sous le couvert d'un contrat européen. Ce modèle comprend les résultats de 78 études qui étaient alors disponibles pour le groupe de travail. Les résultats, tels que présentés à la fin du contrat, ont été considérés par la Commission comme trop variables pour pouvoir être aisément utilisables par les réglementaires. Cependant, ces données sont disponibles à l'adresse suivante: <http://europoem.csl.gov.uk> et elles sont très utiles pour affiner des résultats ou quand c'est la seule source de données d'exposition pour un usage donné.

### PHED V 1.1 février 1995:

Ce modèle a été construit par les agences réglementaires et l'industrie nord-américaines. Ce modèle comprend environ 1 800 répétitions pour des types d'usages très variés. Ce modèle est actuellement utilisé en Amérique du Nord et certains des usages modélisés peuvent être utilisés dans d'autres pays. En Annexes V et VI sont précisés les paramètres d'entrée, ainsi que le type d'équipement de protection pour chaque scénario.

Pour chaque type d'usage, tous les modèles adéquats seront présentés. Comme certains modèles sont clairement plus conservateurs que d'autres, tous les résultats seront discutés avant de conclure.

## 1 SCENARIO 1: PULVERISATEUR MANUEL A PRESSION PREALABLE (5 L)

### 1.1 EVALUATION SELON LE SCENARIO 1

Il n'existe pas de modèle public pour ce scénario. Une évaluation peut néanmoins être conduite en utilisant les modèles POEM et BBA et en assimilant le pulvérisateur à pression préalable à un pulvérisateur à dos. Le volume de 15 L est réduit à 5 L dans les calculs.

Remarque : Dans le modèle POEM présent sur le site du PSD, la modalité qui a été ajoutée concernant les pulvérisateurs pour jardiniers amateurs (« Home garden sprayer (5 litre tank), Outdoor, low level target) » est une adaptation à partir des données initiales mesurées avec un pulvérisateur à dos. Les modifications consistent à réduire le volume du pulvérisateur de 15 à 5 L et à considérer que l'applicateur n'est pas protégé (qu'il porte un short et un T-shirt). Cette deuxième modification n'est pas adaptée à l'application du spinosad par des professionnels. C'est pourquoi la modalité « Home garden sprayer » n'a pas été utilisée.

#### Paramètres d'application considérés:

Taux d'application maximum: 35 g s.a./ha

Volume d'application: 15 L/ha (qui correspond à un traitement par taches)

Volume (estimé) du pulvérisateur: 5 L

Vitesse: 2-3 km/h

Surface traitée par jour: 3 ha

Quantité de s.a. manipulée par jour: 0,105 kg

L'évaluation du risque est donc conduite ci-dessous selon les modèles POEM et BBA. Un poids corporel de 60 kg a été considéré pour les 2 modèles.

Tableau V.1 : Scénario 1 - Evaluation selon les modèles UK POEM et BBA (détails en Annexes I et II)

	POEM				BBA			
	Exposition	Absorbé		MOS	Exposition	Absorbé		MOS
	(mg/j)	(mg/j)	(mg/kg pc/j)		(mg/j)	(mg/j)	(mg/kg pc/j)	
<i>Exposition cutanée</i>								
Sans protection	241,5	4,009			25,76	0,106		
Gants mélange/chargement	200,4	3,968			4,456	0,085		
Gants mélange/chargement & Application	98,39	1,927			3,355	0,063		
<i>Inhalation</i>								
Mélange/chargement	-	-			0,005	0,005		
Application	0,233	0,233			0,031	0,031		
Total	0,233	0,233			0,037	0,037		
<b>Total (cutané+ inhalation)</b>								
Sans protection	241,7	4,242	0,071	<b>69</b>	25,80	0,143	0,002	<b>2 055</b>
Gants mélange/chargement	200,7	4,201	0,070	<b>70</b>	4,493	0,122	0,002	<b>2 414</b>
Gants mélange/chargement & Application	98,62	2,160	0,036	<b>136</b>	3,391	0,1	0,002	<b>2 948</b>

- pas d'inhalation mesurée selon POEM pendant le mélange/chargement

---

## 1.2 CONCLUSION POUR LE PULVERISATEUR MANUEL A PRESSION PREALABLE

---

Il n'existe pas à ce jour de modèle d'évaluation public avec un pulvérisateur à pression préalable. Le pulvérisateur à dos est sans aucun doute l'équipement d'application le plus proche.

Ce modèle est pénalisant parce que la contamination au niveau du contact entre le pulvérisateur à dos et le corps est élevée, alors qu'elle n'existe pas pour le pulvérisateur à pression préalable. Ces approximations donnent donc une idée conservatrice du niveau d'exposition.

Le risque est acceptable selon le modèle BBA puisque la marge de sécurité est égale à 2 055 même si l'opérateur ne porte pas d'équipement de protection individuelle.

Selon le modèle POEM, le risque est acceptable si l'opérateur porte des gants pendant le mélange/chargement et l'application ; la MOS est alors égale à 136. A noter que ce modèle n'est pas bien adapté parce qu'il utilise des données générées avec un pulvérisateur à dos, connues pour être pénalisantes parce le pulvérisateur à dos est en contact avec le dos de la personne et que les risques de fuite à cet endroit ne sont pas rares. Ce risque n'existe pas avec un pulvérisateur à pression préalable et le modèle de calcul d'exposition utilisé est donc très conservateur.

## 2 SCENARIO 2: PULVERISATEUR A JETS PORTES MONTE SUR UN QUAD OU UN VEHICULE A CHENILLES SANS CABINE

### 2.1 EVALUATION SELON LE SCENARIO 2

Il n'existe pas de modèle public disponible pour ces usages. L'équipement utilisé en verger (pulvérisateur pneumatique) est le plus proche des équipements du scénario 2. Les données génériques des modèles POEM et BBA qui correspondent aux applications pneumatiques seront donc ici utilisées pour évaluer l'exposition.

Comme le matériel utilisé pour générer les données du modèle était significativement plus gros que celui qui nous intéresse ici, le modèle ne sera peut-être pas suffisamment conservateur.

#### Paramètres d'application considérés:

Taux d'application maximum: 35 g s.a. /ha

Volume d'application: 2,5 à 3,5 L/ha

Volume (estimé) de la cuve: 50 L

Vitesse: 6-8 km/h

Surface traitée par jour: 20 ha

Quantité de s.a. manipulée par jour: 0,7 kg

L'évaluation du risque est donc conduite ci-dessous selon les modèles POEM, BBA et PHED. Un poids corporel de 60 kg a été considéré pour les 3 modèles.

Tableau V.2 : Scénario 2 - Evaluation selon les modèles UK POEM et BBA (détails en Annexes III et IV)

	POEM				BBA			
	Exposition	Absorbé		MOS	Exposition	Absorbé		MOS
	(mg/j)	(mg/j)	(mg/kg pc/j)		(mg/j)	(mg/j)	(mg/kg pc/j)	
<i>Exposition cutanée</i>								
Sans protection	458,9	8,996			9,728	0,1626		
Gants mélange/chargement	449,8	8,986			8,065	0,1610		
Gants mélange/chargement & Application	298,6	5,963			7,580	0,1513		
<i>Inhalation</i>								
Mélange/chargement	-	-			0,00042	0,00042		
Application	1,680	1,680			0,01260	0,01260		
Total	1,680	1,680			0,01302	0,01302		
<b>Total (cutané+ inhalation)</b>								
Sans protection	460,6	10,68	0,1779	<b>28</b>	9,741	0,1757	0,002928	<b>1 673</b>
Gants mélange/chargement	451,5	10,67	0,1778	<b>28</b>	8,078	0,1740	0,002900	<b>1 690</b>
Gants mélange/chargement & Application	300,3	7,643	0,1274	<b>38</b>	7,593	0,1643	0,002738	<b>1 790</b>

- pas d'inhalation mesurée selon POEM pendant le mélange/chargement

Tableau V.3 : Scénario 2 - Evaluation selon le modèle PHED (détails en Annexe V)

	PHED				MOS
	Exposition	Absorbé			
	(mg/kg s.a.)	(mg/kg s.a.)	(mg/j)	(mg/kg pc/j) *	
<i>Exposition cutanée mélange/chargement</i>					
Sans protection	9,5667	0,009567	0,006697	0,0001116	
Gants	0,0575	0,0000575	0,0000403	0,00000067	
<i>Exposition cutanée application</i>					
Sans protection	0,8949	0,01790	0,01253	0,0002088	
Gants	0,6634	0,01327	0,009288	0,0001548	
<i>Exposition cutanée M/C et application</i>					
Sans protection	10,4616	0,02746	0,01923	0,0003204	
Gants M/C	0,9524	0,01796	0,01257	0,0002095	
Gants mélange/chargement & Application	0,7209	0,01333	0,009328	0,0001555	
<i>Inhalation</i>					
Mélange/chargement	0,0004	0,0004	0,0002800	0,00000467	
Application	0,00671	0,00671	0,004697	0,00007828	
Total	0,00711	0,00711	0,004977	0,00008295	
<b>Total (cutané+ inhalation)</b>					
Sans protection	10,469	0,03457	0,02420	0,0004034	<b>12 148</b>
Gants mélange/chargement	0,9595	0,02507	0,01755	0,0002924	<b>16 756</b>
Gants mélange/chargement & Application	0,7280	0,02044	0,01430	0,0002384	<b>20 552</b>

\* pour une personne de 60 kg

## 2.2 CONCLUSION POUR L'APPLICATION PNEUMATIQUE

Il n'existe pas actuellement de modèle public d'évaluation de l'exposition lors de l'utilisation de petits appareils pneumatiques sans cabine.

L'équipement d'application à jets portés employé en verger est sans doute le modèle le plus proche parce que dans les 2 cas la pulvérisation est pneumatique. Cependant, des différences existent entre le matériel pneumatique usuel en verger et celui proposé pour l'application de spinosad:

- L'appareillage pour appliquer le spinosad est beaucoup plus petit que celui utilisé dans le modèle, ce qui pourrait sous-estimer l'exposition.
- L'appareillage utilisé pour appliquer le spinosad est beaucoup plus dirigé que celui utilise habituellement en verger, ce qui pourrait surestimer l'exposition.

Le risque est acceptable pour ce scénario selon les modèles BBA et PHED, avec des marges de sécurité élevées, même sans équipement de protection (MOS de 1 673 et 12 148 respectivement). Selon le modèle POEM, la MOS n'est pas suffisante (38) si l'opérateur porte des gants pendant le mélange/chargement et l'application. Nous rappelons que les études qui ont servi à construire ce modèle ne sont pas bien adaptées pour évaluer l'exposition lors de l'utilisation d'un équipement pneumatique tel que celui utilisé pour le spinosad. En effet, les données du modèle sont basées sur un volume d'application de 50 L/ha, alors que les applications de spinosad se font plutôt entre 2,5 et 3,5 L/ha. Ce modèle paraît donc être le moins adéquat pour évaluer le risque selon ce scénario.

### 3 SCENARIO 3: PULVERISATEUR A JETS PROJETES (LANCE) MONTE SUR UN PICK-UP A 4 ROUES MOTRICES

#### 3.1 EVALUATION SELON LE SCENARIO 3

Il n'existe pas de modèle public disponible pour ces usages. Des données génériques lors de l'application avec lance ou pistolet issues du modèle EUROPOEM II seront utilisées pour cette évaluation.

Dans le modèle PHED, des données d'application à basse et haute pression avec équipement tenu dans la main seront sélectionnées.

Dans ces modèles, les applications à haute et basse pression seront utilisées combinées parce que l'exposition dans les deux sets de données apparaissent similaires dans la base de données PHED et qu'elles ne peuvent pas être aisément séparées dans EUROPOEM II.

Toutes ces données ont été générées avec des personnes appliquant debout sur le sol où le risque de contact avec les plantes traitées (au moins sur les jambes) était plus élevé que lorsque les applicateurs se tiennent sur le véhicule portant la cuve. Pour cette raison, ces modèles sont sans doute conservateurs. Par ailleurs la taille des gouttelettes pulvérisées devrait être dans la même gamme.

#### Paramètres d'application considérés:

Taux d'application maximum: 35 g s.a. /ha

Volume d'application: 100 L/ha

Volume (estimé) de la cuve: 200 L

Vitesse: 5-15 km/h

Surface traitée par jour: 5 ha

Quantité de s.a. manipulée par jour: 0,175 kg

L'évaluation du risque est donc conduite ci-dessous selon les modèles EUROPOEM II et PHED. Un poids corporel de 60 kg a été considéré pour les 2 modèles.

Tableau V.4 : Scénario 3 - Evaluation selon le modèle PHED (détails en Annexe VI)

	PHED				MOS
	Exposition	Absorbé #			
	(mg/kg s.a.)	(mg/kg s.a.)	(mg/j)	(mg/kg pc/j) *	
<i>Exposition cutanée M/C et application</i>					
Sans protection	225,5	4,510	0,7892	0,01315	
Gants	1,143	0,02285	0,003999	0,00006665	
<i>Inhalation</i>					
Total	0,04684	0,04684	0,008197	0,0001366	
<b>Total (cutané+ inhalation)</b>					
Sans protection	225,5	4,557	0,7974	0,01329	<b>369</b>
Gants	1,189	0,06969	0,01220	0,0002033	<b>24 107</b>

# Les données utilisées ici sont des données mélange/chargement/application. Le pourcentage de pénétration cutané le plus pénalisant (celui de la formulation diluée à 2 %) a été utilisé pour calculer la quantité absorbée.

\* pour une personne de 60 kg

Tableau V.5 : Scénario 3 - Evaluation selon le modèle EUROPOEM II (détails en Annexe VII)

	EUROPOEM				MOS
	Exposition	Absorbé			
	(mg/kg s.a.)	(mg/kg s.a.)	(mg/j)	(mg/kg pc/j) *	
<i>Exposition cutanée mélange/chargement</i>					
Sans protection	27,81	0,02781	0,004867	0,00008111	
Gants	0,183	0,000183	0,0000320	0,0000005	
<i>Exposition cutanée application</i>					
Sans protection	110,7	2,215	0,3876	0,006460	
Gants	84,82	1,696	0,2969	0,004948	
<i>Exposition cutanée M/C et application</i>					
Sans protection	138,56	2,243	0,3925	0,006541	
Gants M/C	110,9	2,215	0,3877	0,006461	
Gants mélange/chargement & Application	85,00	1,697	0,2969	0,004948	
<i>Inhalation</i>					
Mélange/chargement	0,0014	0,0014	0,000245	0,0000041	
Application	0,356	0,356	0,06230	0,001038	
Total	0,3574	0,3574	0,06255	0,001042	
<b>Total (cutané+ inhalation)</b>					
Sans protection	138,9	2,600	0,4550	0,007584	<b>646</b>
Gants mélange/chargement	111,3	2,573	0,4502	0,006432	<b>653</b>
Gants mélange/chargement & Application	85,36	2,054	0,3594	0,005991	<b>818</b>

\* pour une personne de 60 kg

### 3.2 CONCLUSION POUR LE SCÉNARIO 3

Il n'existe pas de modèle public d'évaluation du risque pour des applications avec une lance reliée à une cuve portée par un véhicule 4x4.

Les applications utilisant un équipement tenu dans la main constituent probablement le modèle le plus proche parce que dans les deux cas, l'application est effectuée à l'aide d'un pistolet ou d'une lance reliée par un tuyau flexible à une cuve. Cependant des différences existent entre ces deux méthodes d'application:

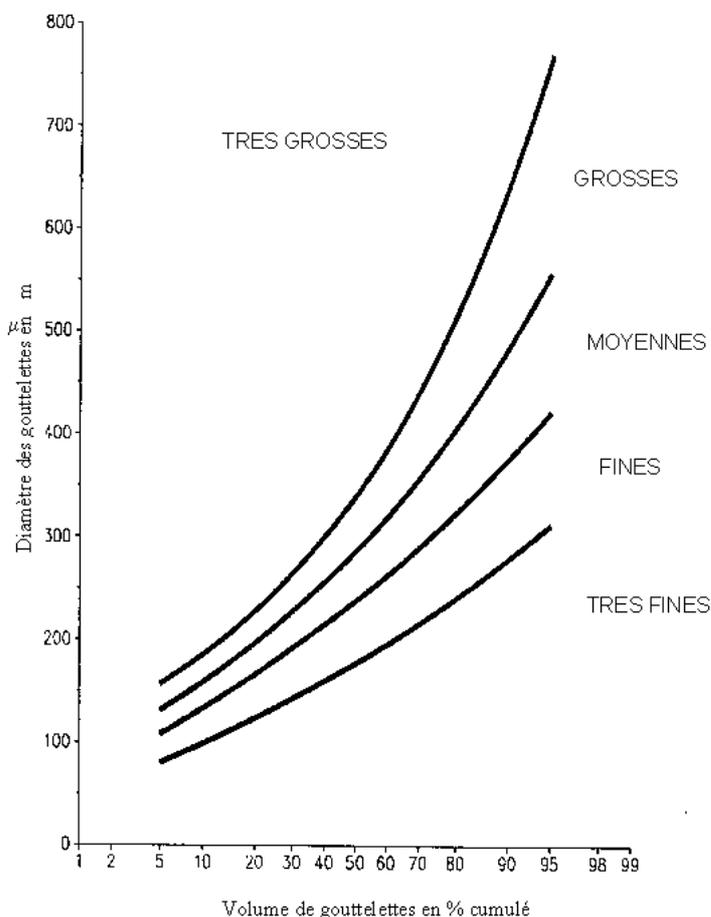
- Dans le cas de l'application du spinosad, une contamination générale de la surface du véhicule sur lequel se tient l'applicateur peut survenir, ce qui sous-estimerait l'exposition.
- D'autre part, lors de l'application du spinosad, l'opérateur ne sera pas en contact direct avec les plantes traitées ce qui surestimerait l'exposition.

L'évaluation de l'exposition faite pour ce scénario montre que le risque est acceptable selon les deux modèles utilisés, même si l'opérateur ne porte pas de gants de protection. D'après PHED, la marge de sécurité est égale à 369 et d'après EUROPOEM, la MOS est égale à 646.

## 4 SCENARIO 4: EXPOSITION DE L'ACCOMPAGNANT ET DE LA PERSONNE PRESENTE

### 4.1 PULVERISATEUR MANUEL A PRESSION PREALABLE (5 L)

La taille des gouttelettes issues d'un pulvérisateur à pression préalable est trop élevée pour pouvoir être inhalée. En effet, la distribution de la taille des gouttelettes est contrôlée pour les pulvérisateurs portatifs (procédures de contrôle FAO<sup>27</sup>). Les gouttelettes ont principalement une taille supérieure à 100 µm de diamètre comme le montre le graphique ci-dessous. Or ce diamètre est la valeur supérieure pour les particules inhalables. Quant aux particules respirables, leur taille doit être inférieure à 4 µm.



De plus, ces gouttelettes ne sont pas projetées très loin (seulement quelques mètres) et elles tombent rapidement sur le sol à cause de leur taille. Quelques secondes après l'application, il n'y a plus aucune gouttelette dans l'air.

C'est pourquoi, comme l'application n'est pas conduite près de zones habitées, le risque pour une personne présente est négligeable.

<sup>27</sup> Précisions sur le site <http://www.fao.org/docrep/X2245F/X2245F02.htm>

## 4.2 PULVERISATEUR PNEUMATIQUE A PARTIR D'UN QUAD OU D'UN VEHICULE A CHENILLES SANS CABINE

La dérive survenant lors de l'application avec un tel équipement pourrait être semblable à celle mesurée lors d'une application sur vigne. Selon des données de pire cas (Rautmann, 2001<sup>28</sup>) sur la dérive lors d'une application sur champ, il est montré qu'à 10 m (ce qui représente la distance à laquelle peut se situer une personne présente juste en dehors de la zone traitée) les quantités déposées représentent 0,3 % ou moins de la dose appliquée (90<sup>e</sup> pourcentile). Lors d'une application sur vigne (Rautmann, 2001), les quantités déposées à 10 m correspondent à 1,23 % de la dose appliquée. D'après cette extrapolation, on considère que l'exposition pendant l'application sur vigne est 4,1 fois plus élevée que lors d'une application avec un tracteur équipé d'une rampe de buses hydrauliques. Si l'exposition d'une personne présente comparée à celle d'un applicateur est proportionnelle à la durée d'exposition et à la quantité de substance dans l'air, il est peu probable que l'exposition des personnes présentes hors de la surface traitée excède la valeur de la dose tolérée.

Des mesures directes de l'exposition des personnes présentes faites au Royaume Uni pendant des applications avec rampes à buses hydrauliques (Lloyd et Bell, 1983)<sup>29</sup> viennent appuyer cette conclusion. Dans le cas typique d'un passage unique du pulvérisateur, l'exposition cutanée potentielle (ECP) a été mesurée égale à 0,1 mL de spray sur une personne présente située à 8 m du bord de la surface traitée. L'exposition moyenne potentielle par inhalation a été typiquement égale à 0,02 mL spray/m<sup>3</sup>. Les valeurs maximales obtenues atteignaient environ 5 fois ces valeurs moyennes.

Quand on extrapole ces valeurs de contamination cutanée et par inhalation à la vigne et en considérant une exposition 4,1 fois plus élevée selon l'étude de Rautmann (2001), on peut considérer que pour la vigne, l'ECP sera 0,41 mL de bouillie. L'exposition par inhalation sera 0,082 mL bouillie/m<sup>3</sup>.

Pour le spinosad, il est supposé que:

- 14) DSEIO = 4,9 mg/kg pc/j ;;
- 15) la concentration dans la bouillie est au plus égale à 14 mg spinosad/mL ;
- 16) 100 % de l'exposition potentielle par inhalation est absorbée et retenue ;
- 17) un volume respiratoire égal à 3,2 m<sup>3</sup>/h pendant un travail éprouvant pour un adulte et 2,4 m<sup>3</sup>/h pour un enfant de 6 ans en activité intense<sup>30</sup> ;
- 18) une durée d'exposition de 5 minutes ;
- 19) un poids corporel de 60 kg pour un adulte et 22 kg pour un enfant de 6 ans<sup>4</sup>.

Ainsi l'exposition d'une personne présente au spinosad peut être déterminée comme suit:

- Adulte :

\* Contamination cutanée:

$$0,41 \text{ mL} \times 14 \text{ mg/mL} = 5,74 \text{ mg/j, soit } 0,0957 \text{ mg/kg pc/j}$$

<sup>28</sup> Rautmann, D., Streloke, M., Winkler, R. (2001) New basic drift values in the authorization procedure for plant protection products. In: Forster, R.; Streloke, M. (eds): Workshop on risk assessment and risk mitigation measures in the context of authorization of plant protection (WORMM): 27. -29. September 1999. Organised by Federal Biological Research Centre for Agriculture and Forestry, Biology Division, Braunschweig, Germany. Berlin: Parey. Mitt. Biol. Bundesanst. Land- Forstwirtschaft. 383, 133 - 141. Published

<sup>29</sup> Lloyd GA, Bell GJ (1983) Hydraulic nozzles: Comparative spray drift study, UK Ministry Agriculture Fisheries and Food. Published

<sup>30</sup> Thongsinthusak T. (1997) Position paper : Standard reference values and availability of exposure factors handbook. California Environmental Protection Agency, Department of Pesticide Regulation.

\* Contamination par inhalation:

$$5 \text{ min} \times 3,2 \text{ m}^3 / 60 \text{ min} \times 0,082 \text{ mL/m}^3 \times 14 \text{ mg/mL} = 0,306 \text{ 1 mg/j}$$

soit 0,005 10 mg/kg pc/j

Avec une DSEO interne, la quantité absorbée par voie cutanée = contamination cutanée x 2 %

	<i>Absorption cutanée</i>	<i>Absorption par inhalation</i>	<i>Dose totale absorbée</i>
Dose (mg/kg/jour)	0,001 914	0,005 10	0,007 014
<b>MOS</b>			<b>699</b>

- Enfant de 6 ans :

\* Contamination cutanée:

$$0,41 \text{ mL} \times 14 \text{ mg/mL} = 5,74 \text{ mg/j, soit } 0,261 \text{ mg/kg pc/j}$$

\* Contamination par inhalation:

$$5 \text{ min} \times 2,4 \text{ m}^3 / 60 \text{ min} \times 0,082 \text{ mL/m}^3 \times 14 \text{ mg/mL} = 0,2296 \text{ mg/j}$$

soit 0,01044 mg/kg pc/j

Avec une DSEO interne, la quantité absorbée par voie cutanée = contamination cutanée x 2 %

	<i>Absorption cutanée</i>	<i>Absorption par inhalation</i>	<i>Dose totale absorbée</i>
Dose (mg/kg/jour)	0,005 22	0,010 44	0,015 66
<b>MOS</b>			<b>313</b>

#### 4.3 PULVERISATEUR A JETS PROJETES MONTE SUR UN PICK-UP A 4 ROUES MOTRICES

Il n'existe pas de valeur de dérive quand celle-ci survient pendant une application avec une lance. C'est pourquoi, une valeur de dérive maximum est utilisée par défaut ; elle correspond à 33,2 % de la dose appliquée<sup>31</sup>. Ce coefficient de dérive est présenté dans les documents FOCUS relatifs aux eaux de surface (FOCUS, 2001). Selon le même raisonnement que celui présenté au point 4.2, l'exposition pendant l'application à la lance est 110,67 fois plus élevée que lors d'une application avec un tracteur équipé d'une rampe de buses hydrauliques. Par extrapolation à partir des valeurs mesurées par Lloyd et Bell (1983), l'exposition cutanée potentielle (ECP) sera 11,1 mL de bouillie. L'exposition par inhalation sera 2,21 mL bouillie/m<sup>3</sup>.

Pour le spinosad, il est supposé que:

20) DSEIO = 4,9 mg/kg pc/j ;

21) la concentration dans la bouillie est au plus égale à 0,35 mg spinosad/mL ;

22) 100 % de l'exposition potentielle par inhalation est absorbée et retenue ;

23) un volume respiratoire égal à 3,2 m<sup>3</sup>/h pendant un travail éprouvant pour un adulte et 2,4 m<sup>3</sup>/h pour un enfant de 6 ans en activité intense<sup>32</sup> ;

<sup>31</sup> Modèle AgDrift, STDF 1999

<sup>32</sup> Thongsinthusak T. (1997) Position paper : Standard reference values and availability of exposure factors handbook. California Environmental Protection Agency, Department of Pesticide Regulation.

24) une durée d'exposition de 5 minutes ;

25) un poids corporel de 60 kg pour un adulte et 22 kg pour un enfant de 6 ans <sup>4</sup>.

Ainsi l'exposition d'une personne présente au spinosad peut être déterminée comme suit:

- Adulte :

\* Contamination cutanée:

$$11,1 \text{ mL} \times 0,35 \text{ mg/mL} = 3,885 \text{ mg/j, soit } 0,06475 \text{ mg/kg pc/j}$$

\* Contamination par inhalation:

$$5 \text{ min} \times 3,2 \text{ m}^3 / 60 \text{ min} \times 2,21 \text{ mL/m}^3 \times 0,35 \text{ mg/mL} = 0,2063 \text{ mg/j}$$

soit 0,00344 mg/kg pc/j

Avec une DSEO interne, la quantité absorbée par voie cutanée = contamination cutanée x 2 %

	<i>Absorption cutanée</i>	<i>Absorption par inhalation</i>	<i>Dose totale absorbée</i>
Dose (mg/kg/jour)	0,001295	0,00344	0,004735
<b>MOS</b>			<b>1035</b>

- Enfant de 6 ans :

\* Contamination cutanée:

$$11,1 \text{ mL} \times 0,35 \text{ mg/mL} = 3,885 \text{ mg/j, soit } 0,177 \text{ mg/kg pc/j}$$

\* Contamination par inhalation:

$$5 \text{ min} \times 2,4 \text{ m}^3 / 60 \text{ min} \times 2,21 \text{ mL/m}^3 \times 0,35 \text{ mg/mL} = 0,1547 \text{ mg/j}$$

soit 0,00703 mg/kg pc/j

Avec une DSEO interne, la quantité absorbée par voie cutanée = contamination cutanée x 2 %

	<i>Absorption cutanée</i>	<i>Absorption par inhalation</i>	<i>Dose totale absorbée</i>
Dose (mg/kg/jour)	0,00354	0,00703	0,01057
<b>MOS</b>			<b>464</b>

## 5 CONCLUSION GÉNÉRALE

Tableau V.6 : MOS acceptables selon le scénario et le modèle utilisé

Scénario	POEM	BBA	EUROPOEM II	PHED
1 - Pulvérisateur manuel à pression préalable	136 (gants M/C & appl.)	2 055 (sans protection)	-	-
2 - Pulvérisateur pneumatique	38 (gants M/C & appl.)	1 673 (sans protection)	-	12 148 (sans protection)
3 - Lance (ou pistolet) reliée à une cuve	-	-	369 (sans protection)	646 (sans protection)

-: pas de modèle

Les modèles utilisés couramment pour l'évaluation du risque (POEM et BBA) ne couvrent pas exactement les types d'équipement envisagés pour les applications de spinosad dans le cadre de la lutte antivectorielle. Des équipements proches ont été considérés et leurs avantages et inconvénients discutés.

Les conclusions suivantes peuvent être tirées en considérant qu'une marge de sécurité (MOS) supérieure à 100 est considérée comme étant acceptable:

Le risque est acceptable dans tous les cas sans équipement de protection, sauf quand le modèle POEM est utilisé pour calculer l'exposition.

D'après le modèle POEM, le risque est acceptable si l'opérateur porte des gants de protection pendant le mélange/chargement et l'application pour le scénario 1 (MOS = 136). Pour le scénario 2, le risque n'est pas acceptable si l'opérateur porte des gants de protection pendant le mélange/chargement et l'application (MOS = 38). Cependant, comme cela a déjà été expliqué plus haut (voir paragraphes 1.2 et 2.2), le modèle POEM est le modèle le moins bien adapté à l'évaluation des scénarios 1 et 2.

On peut donc conclure qu'un opérateur portant des gants pendant le mélange/chargement et l'application d'une formulation SC à base de spinosad court un risque très limité. Dans le cas où une personne aide l'opérateur (conduite du véhicule, manipulation du tuyau reliant la lance à la cuve, le cas échéant), il est recommandé que cette personne porte aussi des gants de protection.

**ANNEXE I: SCENARIO 1: PULVERISATEUR A PRESSION PREALABLE (POEM)**

<b>A Données relatives au Produit</b>						
1	Active Substance	<b>spinosad</b>				
2	Concentration s.a. dans la formulation	480			mg/mL	
3	Type de formulation	SC				
4	Concentration de la bouillie	2,333			g/L	
	Dose s.a./ha	35			g/ha	
<b>B Exposition cutanée pendant le mélange/chargement</b>						
1a	Taille des bidons	1			L	
1b	Contamination des mains par opération	0,01			mL/op.	
2	Quantité de formulation appliquée	0,2083			L/ha	
3	Surface traitée par jour	3			ha/jour	
4	Nombre d'opérations par jour	3	3		op./jour	
5	Contamination des mains par jour	0,09	0,09		mL/jour	
6	Protection	<b>Aucune</b>	<b>Gants</b>			
7	Transmission à la peau	100	5		%	
8	Exposition cutanée	0,090	0,005		mL/jour	
9	Concentration en substance active	480	480		mg/mL	
10	Exposition cutanée à la substance active	43,200	2,160		mg/jour	
11	Pénétration cutanée	0,10	0,10		%	
12	<b>Dose absorbée par la peau</b>	<b>0,0432</b>	<b>0,00216</b>		<b>mg/jour</b>	
<b>C Exposition cutanée pendant l'application</b>						
1	Volume de bouillie appliquée	15			L/ha	
2	Volume de contamination	50			mL/h	
		Mains	Mains	Tronc	Jambes	
3	Distribution	25	25	25	50	
4	Protection	Aucune	Gants	perméable	perméable	
5	Transmission à la peau	100	10	20	18	
6	Exposition cutanée	10,000	1,250	2,500	4,500	
7	Durée de l'exposition	5				
	<b>Mesures de protection</b>	<b>Aucune</b>	<b>Gants</b>			
8	Exposition cutanée totale pendant l'application	85,000	41,250		mL/jour	
9	Concentration en substance active	2,333	2,333		mg/mL	
10	Exposition cutanée à la substance active	198,288	96,228		mg/jour	
11	Pénétration cutanée	2	2		%	
12	<b>Dose absorbée par exposition cutanée</b>	<b>3,966</b>	<b>1,925</b>		<b>mg/jour</b>	
<b>D Exposition par inhalation pendant l'application</b>						
1	Exposition à la formulation par inhalation	0,020			mL/h	
2	Durée de l'exposition	5			h	
3	Concentration en substance active	2,333			mg/mL	
4	Exposition à la substance active par inhalation	0,233			mg/jour	
5	Absorption (%)	100			%	
6	<b>Dose absorbée par inhalation</b>	<b>0,233</b>			<b>mg/jour</b>	
<b>E Dose totale absorbée</b>						
	<b>Exposition cutanée</b>	<b>Pas de protection</b>	<b>Gants MC</b>	<b>Gants MC et Applic.</b>		
	Mélange/chargement	0,04320	0,00216	0,00216	mg/jour	
	Application	3,96576	3,96576	1,92456	mg/jour	
	Dose totale absorbée par la peau	4,00896	3,96792	1,92672	mg/jour	
	<b>Inhalation</b>	0,23328	0,23328	0,23328	mg/jour	
	<b>Dose totale absorbée</b>	4,24	4,20	2,160	<b>mg/jour</b>	
	<b>Dose totale absorbée (personne de 60 kg)</b>	0,0702	0,0700	0,0360	<b>mg/kg/j</b>	
	<b>MOS</b>	<b>69</b>	<b>70</b>	<b>136</b>		

**ANNEXE II: SCENARIO 1: PULVERISATEUR A PRESSION PREALABLE (MOD. BBA)**

Substance active (s.a.)	spinosad	
Type de formulation	SC	
Concentration s.a. dans la formulation	480	g/L
Taux d'application	0,0729	L/ha
Surface traitée	3	ha/jour
Quantité de s.a. manipulée	0,105	kg/jour

Mélange/chargement (M/C)			
<b>Exposition par inhalation</b>			
Exposition générique	0,05	0,05	mg/kg s.a./jour
Exposition à la s.a. manipulée	0,00525	0,00525	mg/pers./jour
Absorption	100	100	%
Dose absorbée	0,00525	0,00525	mg/pers./jour
<b>Exposition cutanée (mains)</b>			
	<b>Pas de protection</b>	<b>Gants</b>	
Exposition générique	205,00	205,00	mg/kg s.a./jour
Transfert à la peau	100	1	%
Exposition à la s.a. manipulée	21,52008	0,21520	mg/pers./jour
Absorption cutanée	0,10	0,10	%
Dose absorbée	0,02152	0,00022	mg/pers./jour
<b>Dose totale absorbée (M/C)</b>	<b>0,02677</b>	<b>0,00546</b>	<b>mg/pers./jour</b>

Application (Applic.)	Pas de protection	Gants	
<b>Exposition par inhalation</b>			
Exposition générique	0,300	0,300	mg/kg s.a./jour
Exposition à la s.a. manipulée	0,03149	0,03149	mg/pers./jour
Absorption	100	100	%
Dose absorbée	0,03149	0,03149	mg/pers./jour
<b>Exposition cutanée (tête)</b>			
Exposition générique	4,80	4,80	mg/kg s.a./jour
Transfert à la peau	100	100	%
Exposition à la s.a. manipulée	0,50388	0,50388	mg/pers./jour
Absorption cutanée	2,00	2,00	%
Dose absorbée	0,01008	0,01008	mg/pers./jour
<b>Exposition cutanée (mains)</b>			
Exposition générique	10,60	10,60	mg/kg s.a./jour
Transfert à la peau	100	1	%
Exposition à la s.a. manipulée	1,11275	0,01113	mg/pers./jour
Absorption cutanée	2,00	2,00	%
Dose absorbée	0,02225	0,00022	mg/pers./jour
<b>Exposition cutanée (corps)</b>			
Exposition générique	25,00	25,00	mg/kg s.a./jour
Transfert à la peau	100	100	%
Exposition à la s.a. manipulée	2,62440	2,62440	mg/pers./jour
Absorption cutanée	2,00	2,00	%
Dose absorbée	0,05249	0,05249	mg/pers./jour
<b>Dose totale absorbée (Application)</b>	<b>0,11631</b>	<b>0,09428</b>	<b>mg/pers./jour</b>

Dose totale absorbée pendant le M/C et l'application	Pas de protection	Gants M/C	Gants M/C & Applic.	
<b>Exposition cutanée</b>				
Mélange/chargement	0,02152	0,00022	0,00022	mg/pers./jour
Application	0,08482	0,08482	0,06279	mg/pers./jour
Dose totale cutanée absorbée	0,10634	0,08504	0,06300	mg/pers./jour
<b>Exposition par inhalation</b>				
Mélange/chargement	0,00525	0,00525	0,00525	mg/pers./jour
Application	0,03149	0,03149	0,03149	mg/pers./jour
Dose totale absorbée - inhalation	0,03674	0,03674	0,03674	mg/pers./jour
<b>Dose totale absorbée</b>	<b>0,1431</b>	<b>0,1218</b>	<b>0,0997</b>	<b>mg/pers./jour</b>
<b>Dose totale abs. (pers. 60 kg)</b>	<b>0,002385</b>	<b>0,002030</b>	<b>0,001662</b>	<b>mg/kg pc/jour</b>
<b>MOS</b>	<b>2055</b>	<b>2414</b>	<b>2948</b>	

**ANNEXE III: PULVERISATEUR A JETS PORTES MONTE SUR UN QUAD OU UN VEHICULE A CHENILLES SANS CABINE (POEM)**

<b>A Données relatives au Produit</b>						
1	Active Substance	<b>spinosad</b>				
2	Concentration s.a. dans la formulation	480			mg/mL	
3	Type de formulation	SC				
4	Concentration de la bouillie	13,997			g/L	
	Dose s.a./ha	100			g/ha	
<b>B Exposition cutanée pendant le mélange/chargement</b>						
1a	Taille des bidons	1			L	
1b	Contamination des mains par opération	0,01			mL/op.	
2	Quantité de formulation appliquée	0,2083			L/ha	
3	Surface traitée par jour	20			ha/jour	
4	Nombre d'opérations par jour	2	2		op./jour	
5	Contamination des mains par jour	0,02	0,02		mL/jour	
6	Protection	<b>Aucune</b>	<b>Gants</b>			
7	Transmission à la peau	100	5		%	
8	Exposition cutanée	0,020	0,001		mL/jour	
9	Concentration en substance active	480	480		mg/mL	
10	Exposition cutanée à la substance active	9,600	0,480		mg/jour	
11	Pénétration cutanée	0,10	0,10		%	
12	<b>Dose absorbée par la peau</b>	<b>0,0096</b>	<b>0,00048</b>		<b>mg/jour</b>	
<b>C Exposition cutanée pendant l'application</b>						
1	Volume de bouillie appliquée	2,5			L/ha	
2	Volume de contamination	20			mL/h	
		Mains	Mains	Tronc	Jambes	
3	Distribution	10	10	65	25	
4	Protection	Aucune	Gants	Perméable	Perméable	
5	Transmission à la peau	100	10	20	15	
6	Exposition cutanée	2,000	0,200	2,6	0,75	
7	Durée de l'exposition	6			h	
	<b>Mesures de protection</b>	<b>Aucune</b>	<b>Gants</b>			
8	Exposition cutanée totale pendant l'application	32,1	21,3		mL/jour	
9	Concentration en substance active	13,997	13,997		mg/mL	
10	Exposition cutanée à la substance active	449,3	298,14		mg/jour	
11	Pénétration cutanée	2	2		%	
12	<b>Dose absorbée par exposition cutanée</b>	<b>8,986</b>	<b>5,963</b>		<b>mg/jour</b>	
<b>D Exposition par inhalation pendant l'application</b>						
1	Exposition à la formulation par inhalation	0,020			mL/h	
2	Durée de l'exposition	6			h	
3	Concentration en substance active	13,997			mg/mL	
4	Exposition à la substance active par inhalation	1,680			mg/jour	
5	Absorption (%)	100			%	
6	<b>Dose absorbée par inhalation</b>	<b>1,680</b>			<b>mg/jour</b>	
<b>E Dose totale absorbée</b>						
	<b>Exposition cutanée</b>	<b>Pas de protection</b>	<b>Gants MC</b>	<b>Gants MC et Applic.</b>		
	Mélange/chargement	0,00960	0,00048	0,00048	mg/jour	
	Application	8,986	8,986	5,963	mg/jour	
	Dose totale absorbée par la peau	8,996	8,9865	5,963	mg/jour	
	<b>Inhalation</b>	1,67962	1,68	1,68	mg/jour	
	<b>Dose totale absorbée</b>	<b>10,675</b>	<b>10,666</b>	<b>7,643</b>	<b>mg/jour</b>	
	<b>Dose totale absorbée (personne de 60 kg)</b>	<b>0,1779</b>	<b>0,1778</b>	<b>0,1274</b>	<b>mg/kg/j</b>	
	<b>MOS</b>	<b>28</b>	<b>28</b>	<b>38</b>		

**ANNEXE IV: PULVERISATEUR A JETS PORTES MONTE SUR UN QUAD OU UN VEHICULE A CHENILLES SANS CABINE (MODELE BBA)**

Substance active (s.a.)	spinosad	
Type de formulation	SC	
Concentration s.a. dans la formulation	480	g/L
Taux d'application	0,0729	L/ha
Surface traitée	20	ha/jour
Quantité de s.a. manipulée	0,7	kg/jour

Mélange/chargement (M/C)			
<b>Exposition par inhalation</b>			
Exposition générique	0,0006	0,0006	mg/kg s.a./jour
Exposition à la s.a. manipulée	0,00042	0,00042	mg/pers./jour
Absorption	100	100	%
Dose absorbée	0,00042	0,00042	mg/pers./jour
<b>Exposition cutanée (mains)</b>			
	<b>Pas de protection</b>	<b>Gants</b>	
Exposition générique	2,40	2,40	mg/kg s.a./jour
Transfert à la peau	100	1	%
Exposition à la s.a. manipulée	1,680	0,01680	mg/pers./jour
Absorption cutanée	0,10	0,10	%
Dose absorbée	0,00168	0,00002	mg/pers./jour
<b>Dose totale absorbée (M/C)</b>	<b>0,00210</b>	<b>0,000437</b>	<b>mg/pers./jour</b>

Application (Applic.)	Pas de protection	Gants	
<b>Exposition par inhalation</b>			
Exposition générique	0,018	0,018	mg/kg s.a./jour
Exposition à la s.a. manipulée	0,01260	0,01260	mg/pers./jour
Absorption	100	100	%
Dose absorbée	0,01260	0,01260	mg/pers./jour
<b>Exposition cutanée (tête)</b>			
Exposition générique	1,20	1,20	mg/kg s.a./jour
Transfert à la peau	100	100	%
Exposition à la s.a. manipulée	0,83981	0,83981	mg/pers./jour
Absorption cutanée	2,00	2,00	%
Dose absorbée	0,01680	0,01680	mg/pers./jour
<b>Exposition cutanée (mains)</b>			
Exposition générique	0,70	0,70	mg/kg s.a./jour
Transfert à la peau	100	1	%
Exposition à la s.a. manipulée	0,48989	0,00490	mg/pers./jour
Absorption cutanée	2,00	2,00	%
Dose absorbée	0,00980	0,00010	mg/pers./jour
<b>Exposition cutanée (corps)</b>			
Exposition générique	9,60	9,60	mg/kg s.a./jour
Transfert à la peau	100	100	%
Exposition à la s.a. manipulée	6,71846	6,71846	mg/pers./jour
Absorption cutanée	2,00	2,00	%
Dose absorbée	0,13437	0,13437	mg/pers./jour
<b>Dose totale absorbée (Application)</b>	<b>0,17356</b>	<b>0,16386</b>	<b>mg/pers./jour</b>

Dose totale absorbée pendant le M/C et l'application	Pas de protection	Gants M/C	Gants M/C & Applic.	
<b>Exposition cutanée</b>				
Mélange/chargement	0,00168	0,00002	0,00002	mg/pers./jour
Application	0,16096	0,16096	0,15126	mg/pers./jour
Dose totale cutanée absorbée	0,16264	0,16098	0,15128	mg/pers./jour
<b>Exposition par inhalation</b>				
Mélange/chargement	0,00042	0,00042	0,00042	mg/pers./jour
Application	0,01260	0,01260	0,01260	mg/pers./jour
Dose totale absorbée - inhalation	0,01302	0,01302	0,01302	mg/pers./jour
<b>Dose totale absorbée</b>	<b>0,17566</b>	<b>0,17400</b>	<b>0,16430</b>	<b>mg/pers./jour</b>
<b>Dose totale abs. (pers. 60 kg)</b>	<b>0,002928</b>	<b>0,002900</b>	<b>0,002738</b>	<b>mg/kg pc/jour</b>
<b>MOS</b>	<b>1673</b>	<b>1690</b>	<b>1790</b>	

## ANNEXE V: PULVERISATEUR A JETS PORTES MONTE SUR UN QUAD OU UN VEHICULE A CHENILLES SANS CABINE (MODELE PHED)

### MÉLANGE/CHARGEMENT

Subset Specifications for TEMP.NAME.MLOD

With Solid Type Not Equal to 1 and Not Equal to 2 and Not Equal to 3 and Not Equ

Subset originated from TEMP.NAME.MLOD

With Liquid Type Not Equal to 5 and Not Equal to 4 and

With Tank/Hoppers Capacity Less than or Equal to 150 and Greater than or Equal t

Subset originated from MLOD.FILE

#### SUMMARY STATISTICS FOR CALCULATED DERMAL EXPOSURES

**SCENARIO: Long pants, long sleeves, no gloves**

PATCH	DISTRIB.	MICROGRAMS PER KG AI MIXED					
LOCATION	TYPE	Median	Mean	Coef of Var	Geo. Mean	Obs.	
HEAD (ALL)	Other	.574	23.3188	556.9495	1.1759	35	
NECK.FRONT	Other	.0993	1.2863	278.2736	.2501	32	
NECK.BACK	Other	.0486	.2671	271.9008	.0947	32	
UPPER ARMS	Lognormal	2.5695	7461.2914	199.9426	22.4305	4	
CHEST	Other	1.5673	3.0278	116.6521	2.2143	22	
BACK	Lognormal	1.5673	2.547	56.3703	2.2494	8	
FOREARMS	Lognormal	2.9382	16.7982	247.9486	2.9439	9	
THIGHS	Lognormal	1.2649	1.2649	47.1379	1.1925	2	
LOWER LEGS	Lognormal	4.7285	34.8256	226.8116	7.4408	7	
FEET	Lognormal	1.1567	2.1208	119.3921	1.4265	6	
HANDS	Lognormal	8672.343	14461.2669	91.5957	9525.3086	9	
<b>TOTAL DERM:</b>	9565.2814	8688.8574	22008.0148		<b>9566.7274</b>		
<b>INHALATION:</b>	Lognormal	1.1038	1.7157	214.5008	<b>.3991</b>	33	
COMBINED:	9565.6805	8689.9611	22009.7305		9567.1265		
95% C.I. on Mean: Dermal: [-339591.1342, 383607.1638]							
95% C.I. on Geo. Mean: Inhalation: [.0078, 20.4416]							
Inhalation Rate : 25 Liters/Minute			Number of Records: 36				
<b>Data File: MIXER/LOADER</b>			Subset Name: TEMP.NAME.MLOD				

#### SUMMARY STATISTICS FOR CALCULATED DERMAL EXPOSURES

**SCENARIO: Long pants, long sleeves, gloves**

PATCH	DISTRIB.	MICROGRAMS PER KG AI MIXED					
LOCATION	TYPE	Median	Mean	Coef of Var	Geo. Mean	Obs.	
HEAD (ALL)	Other	.574	23.3188	556.9495	1.1759	35	
NECK.FRONT	Other	.0993	1.2863	278.2736	.2501	32	
NECK.BACK	Other	.0486	.2671	271.9008	.0947	32	
UPPER ARMS	Lognormal	2.5695	7461.2914	199.9426	22.4305	4	
CHEST	Other	1.5673	3.0278	116.6521	2.2143	22	
BACK	Lognormal	1.5673	2.547	56.3703	2.2494	8	
FOREARMS	Lognormal	2.9382	16.7982	247.9486	2.9439	9	
THIGHS	Lognormal	1.2649	1.2649	47.1379	1.1925	2	
LOWER LEGS	Lognormal	4.7285	34.8256	226.8116	7.4408	7	
FEET	Lognormal	1.1567	2.1208	119.3921	1.4265	6	
HANDS	Lognormal	10.3656	143.2865	266.1745	16.0442	28	
<b>TOTAL DERM:</b>	56.017	26.8799	7690.0344		<b>57.4629</b>		
<b>INHALATION:</b>	Lognormal	1.1038	1.7157	214.5008	<b>.3991</b>	33	
COMBINED:	56.4161	27.9837	7691.7501		57.862		
95% C.I. on Mean: Dermal: [-303496.5827, 318876.6516]							
95% C.I. on Geo. Mean: Inhalation: [.0078, 20.4416]							
Inhalation Rate : 25 Liters/Minute			Number of Records: 36				
<b>Data File: MIXER/LOADER</b>			Subset Name: TEMP.NAME.MLOD				

## ANNEXE V: PULVERISATEUR A JETS PORTES MONTE SUR UN QUAD OU UN VEHICULE A CHENILLES SANS CABINE (MODELE PHED) - SUITE

### APPLICATION

Subset Specifications for TEMP.NAME.APPL  
 With Application Method Equal to 1 and  
 With Cab Type Equal to 1 and  
 With Total lb ai Applied Less than or Equal to 40  
 Subset originated from APPL.FILE

### SUMMARY STATISTICS FOR CALCULATED DERMAL EXPOSURES

#### SCENARIO: Long pants, long sleeves, no gloves

PATCH	DISTRIB.	MICROGRAMS PER KG AI SPRAYED		Coef of Var	Geo. Mean	Obs.
LOCATION	TYPE	Median	Mean			
HEAD (ALL)	Lognormal	858.3444	1942.0731	140.4455	481.9623	53
NECK.FRONT	Lognormal	31.606	76.417	150.7969	23.0475	44
NECK.BACK	Lognormal	23.2263	62.4422	149.5685	20.2247	48
UPPER ARMS	Other	15.4172	142.0216	192.6326	31.7695	47
CHEST	Lognormal	19.5916	115.8594	181.527	27.7726	51
BACK	Other	15.6733	108.0534	193.7485	22.9751	51
FOREARMS	Other	6.9448	40.43	178.4355	11.5404	47
THIGHS	Lognormal	31.2009	84.9631	225.3248	26.0442	53
LOWER LEGS	Lognormal	15.7616	33.6492	130.8428	14.5545	43
FEET						0
HANDS	Lognormal	193.9141	1208.9278	252.8146	235.0258	28
<b>TOTAL DERM:</b>	866.6669	1211.6801	3814.8369		<b>894.9166</b>	
<b>INHALATION:</b>	Other	6.9391	16.0475	210.5482	<b>6.7095</b>	67
<b>COMBINED:</b>	873.606	1218.6192	3830.8843		901.626	
95% C.I. on Mean: Dermal: [-25045.8992, 32675.573]						
95% C.I. on Geo. Mean: Inhalation: [.3927, 114.6403]						
Inhalation Rate : 25 Liters/Minute      Number of Records: 71						
<b>Data File: APPLICATOR</b> Subset Name: TEMP.NAME.APPL						

### SUMMARY STATISTICS FOR CALCULATED DERMAL EXPOSURES

#### SCENARIO: Long pants, long sleeves, gloves

PATCH	DISTRIB.	MICROGRAMS PER KG AI SPRAYED		Coef of Var	Geo. Mean	Obs.
LOCATION	TYPE	Median	Mean			
HEAD (ALL)	Lognormal	858.3444	1942.0731	140.4455	481.9623	53
NECK.FRONT	Lognormal	31.606	76.417	150.7969	23.0475	44
NECK.BACK	Lognormal	23.2263	62.4422	149.5685	20.2247	48
UPPER ARMS	Other	15.4172	142.0216	192.6326	31.7695	47
CHEST	Lognormal	19.5916	115.8594	181.527	27.7726	51
BACK	Other	15.6733	108.0534	193.7485	22.9751	51
FOREARMS	Other	6.9448	40.43	178.4355	11.5404	47
THIGHS	Lognormal	31.2009	84.9631	225.3248	26.0442	53
LOWER LEGS	Lognormal	15.7616	33.6492	130.8428	14.5545	43
FEET						0
HANDS	Lognormal	3.1461	13.2879	105.2181	3.4687	33
<b>TOTAL DERM:</b>	635.1098	1020.9121	2619.1969		<b>663.3594</b>	
<b>INHALATION:</b>	Other	6.9391	16.0475	210.5482	<b>6.7095</b>	67
<b>COMBINED:</b>	642.0489	1027.8512	2635.2444		670.0689	
95% C.I. on Mean: Dermal: [-13267.2392, 18505.633]						
95% C.I. on Geo. Mean: Inhalation: [.3927, 114.6403]						
Inhalation Rate : 25 Liters/Minute      Number of Records: 71						
<b>Data File: APPLICATOR</b> Subset Name: TEMP.NAME.APPL						

## ANNEXE VI: PULVERISATEUR A JETS PROJETES (LANCE) MONTE SUR UN PICK-UP A 4 ROUES MOTRICES (PHED)

### PHED DATA

Subset Specifications for TEMP.NAME.MLAP

With Application Method Equal to 7 (low pressure hand wand) and

With Solid Type Not Equal to 1 and Not Equal to 2 and Not Equal to 3 and Not Equal to 4

Subset originated from MLAP.FILE

#### SUMMARY STATISTICS FOR CALCULATED DERMAL EXPOSURES

**SCENARIO: Long pants, long sleeves, no gloves**

PATCH LOCATION	DISTRIB. TYPE	Median	Mean	Coef of Var	Geo. Mean	Obs.
HEAD (ALL)	Other	586.7219	1453.7221	136.7049	641.2841	80
NECK.FRONT	Lognormal	45.7285	304.4649	369.6483	41.7819	80
NECK.BACK	Lognormal	37.3466	190.5682	429.9868	32.7481	79
UPPER ARMS	Lognormal	33.404	246.8682	232.934	72.0113	10
CHEST	Other	40.7506	519.1777	185.929	108.1139	10
BACK	Other	40.7506	361.5828	202.4421	91.7711	10
FOREARMS	Other	13.8896	90.4161	267.6492	20.777	10
THIGHS	Other	43.8499	83.8583	115.1859	61.0898	9
LOWER LEGS	Lognormal	27.3201	147.7503	164.3135	66.2784	9
FEET						0
HANDS	Lognormal	212777.289	296912.7662	83.7697	224347.8781	70
<b>TOTAL DERM:</b>	225286.6604	213647.0506	300311.1748		<b>225483.7338</b>	
<b>INHALATION:</b>	Other	57.4872	89.4956	105.042	<b>46.843</b>	80
COMBINED:	225344.1476	213704.5377	300400.6704		225530.5768	
95% C.I. on Mean: Dermal: [-940019.7125, 1540642.0622]						
95% C.I. on Geo. Mean: Inhalation: [2.9013, 756.2973]						
Inhalation Rate : 25 Liters/Minute      Number of Records: 80						
<b>Data File: MIXER/LOADER/APPLICATOR</b> Subset Name: TEMP.NAME.MLAP						

#### SUMMARY STATISTICS FOR CALCULATED DERMAL EXPOSURES

**SCENARIO: Long pants, long sleeves, gloves**

PATCH LOCATION	DISTRIB. TYPE	Median	Mean	Coef of Var	Geo. Mean	Obs.
HEAD (ALL)	Other	586.7219	1453.7221	136.7049	641.2841	80
NECK.FRONT	Lognormal	45.7285	304.4649	369.6483	41.7819	80
NECK.BACK	Lognormal	37.3466	190.5682	429.9868	32.7481	79
UPPER ARMS	Lognormal	33.404	246.8682	232.934	72.0113	10
CHEST	Other	40.7506	519.1777	185.929	108.1139	10
BACK	Other	40.7506	361.5828	202.4421	91.7711	10
FOREARMS	Other	13.8896	90.4161	267.6492	20.777	10
THIGHS	Other	43.8499	83.8583	115.1859	61.0898	9
LOWER LEGS	Lognormal	27.3201	147.7503	164.3135	66.2784	9
FEET						0
HANDS	Other	4.5989	22.9029	252.7287	6.664	10
<b>TOTAL DERM:</b>	943.3812	874.3605	3421.3115		<b>1142.5196</b>	
<b>INHALATION:</b>	Other	57.4872	89.4956	105.042	<b>46.843</b>	80
COMBINED:	1000.8684	931.8477	3510.8071		1189.3627	
95% C.I. on Mean: Dermal: [-18146.6494, 24989.2723]						
95% C.I. on Geo. Mean: Inhalation: [2.9013, 756.2973]						
Inhalation Rate : 25 Liters/Minute      Number of Records: 80						
<b>Data File: MIXER/LOADER/APPLICATOR</b> Subset Name: TEMP.NAME.MLAP						

**ANNEXE VII: PULVERISATEUR A JETS PROJETES (LANCE) MONTE SUR UN PICK-UP A 4 ROUES MOTRICES (EUROPEM)**

<b>M/L</b>	PDE excl hands in µg/kg a.s.	ADE excl hands in µg/kg a.s.	Protected hands in µg/kg a.s.	Unprotected hands in µg/kg a.s.	Protective gloves in µg/kg a.s.	Potential hands in µg/kg a.s.	Potential dermal in µg/kg a.s.	Actual dermal in µg/kg a.s.	Inhalation in µg/kg a.s.
Number of values	35	12	20	40	15	55	31	8	21
% of BLQ									
A.M.	5 853	21	170	78 730	24 582	63 995	55 635	53	1
ASD	15 561	25	283	234 137	22 676	200 788	133 572	59	1
GM	721	10	33	10 012	13 964	10 983	14 635	25	1
GSD	7	4	8	7	4	6	5	4	3
Max value	83 173	85	1 018	1 340 246	78 571	1 340 246	601 900	154	3
90th percentile	14 824	41	545	87 231	53 762	59 960	56 071	135	2
<b>75th percentile</b>	<b>1 875</b>	<b>36</b>	<b>147</b>	<b>27 774</b>	<b>33 869</b>	<b>30 214</b>	<b>40 635</b>	<b>84</b>	<b>1.4</b>
50th percentile	582	9	28	9 329	21 071	10 733	16 614	24	1
25th percentile	208	4	9	2 435	7 798	3 522	5 184	10	0
Min Value	12	1	0	175	453	175	780	3	0
<b>Appl</b>	PDE excl hands in µg/kg a.s.	ADE excl hands in µg/kg a.s.	Protected hands in µg/kg a.s.	Unprotected hands in µg/kg a.s.	Protective gloves in µg/kg a.s.	Potential hands in µg/kg a.s.	Potential dermal in µg/kg a.s.	Actual dermal in µg/kg a.s.	Inhalation in µg/kg a.s.
Number of values	103	12	11	47	62	109	85	6	89
% of BLQ									
A.M.	245 137	42 619	15 357	31 519	51 544	44 413	271 920	54 093	329
ASD	333 152	44 864	26 414	34 006	106 703	84 591	357 273	49 343	541
GM	111 743	14 797	3 128	15 927	16 926	14 797	139 440	23 271	73
GSD	4	6	7	4	5	6	3	6	7
Max value	2 008 450	126 119	71 512	145 721	644 343	644 343	2 012 155	127 004	2 639
90th percentile	646 736	97 742	64 594	81 265	79 573	99 379	676 023	108 599	1 098
<b>75th percentile</b>	<b>272 585</b>	<b>73 624</b>	<b>10 658</b>	<b>37 124</b>	<b>59 791</b>	<b>45 857</b>	<b>309 605</b>	<b>83 160</b>	<b>356</b>
50th percentile	131 801	26 983	2 223	23 364	14 714	17 568	142 601	51 006	82
25th percentile	48 591	3 664	673	8 124	6 636	7 288	74 900	12 930	11
Min Value	719	1 014	303	551	538	538	2 856	1 425	2



## **4. Annexes**



**MINISTÈRE DES SOLIDARITÉS,  
DE LA SANTÉ ET DE LA  
FAMILLE**

**Direction générale de la santé**

**MINISTÈRE DE L'ÉCOLOGIE ET  
DU DÉVELOPPEMENT  
DURABLE**

**Direction de la prévention des  
pollutions et des risques**

Paris le 26 JAN. 2006

Le directeur général de la santé

Le directeur de la prévention des pollutions  
et des risques

à

Madame la Directrice générale de l'Agence  
Française de Sécurité Sanitaire de  
l'Environnement et du Travail  
253 Avenue du Général Leclerc  
94701 Maisons-Alfort

**Objet :** Etude en vue d'une demande d'usage essentiel pour la substance active biocide

Téméphos

**Copie :** DGAI, DRT

Le téméphos est une substance active biocide, utilisée dans des insecticides destinés à la lutte contre les gîtes larvaires en milieu naturel, qui entre dans le champ d'application de la directive 98/8/CE du Parlement européen et du Conseil du 16 février 1998, concernant la mise sur le marché des produits biocides.

Cette substance a été identifiée comme étant une substance active biocide existante sur le marché communautaire avant le 14 mai 2000. En revanche aucun industriel n'ayant annoncé qu'il comptait déposer un dossier en vue de l'inscription de cette substance active à la liste des substances actives biocides autorisées au niveau communautaire, elle ne pourra plus être mise sur le marché à partir du 1er septembre 2006.

Ce retrait potentiel du téméphos au 1er septembre 2006 inquiète l'ensemble des opérateurs de démoustication français. En effet, seules deux substances actives sont aujourd'hui utilisées dans la lutte contre les gîtes larvaires en France : le téméphos et le BTi (*Bacillus thuringiensis israelensis*). Le BTi a été notifié, et pourra rester sur le marché au-delà du 1er septembre 2006. Néanmoins, il semblerait qu'il ne puisse pas totalement remplacer le téméphos, et par ailleurs les opérateurs de démoustication craignent de se trouver démunis en termes d'outils de lutte si des cas de résistance au BTi apparaissaient. Ainsi, le téméphos est largement utilisé aujourd'hui dans la lutte anti-vectorielle outre mer, et en particulier à la Réunion, où sévit actuellement une épidémie de Chikungunya.

L'article 4 bis du règlement 2032/2003 de la Commission, indique que les Etats membres peuvent demander un usage essentiel lorsqu'ils estiment qu'une substance active non notifiée, et qui donc devrait être retirée du marché au 1er septembre 2006, leur est essentielle pour des raisons de santé, de sécurité ou de protection du patrimoine culturel, ou qu'elle est indispensable au bon fonctionnement de la société en l'absence de solutions de remplacement ou de substituts techniquement et économiquement envisageables, qui soient acceptables du point de vue de l'environnement et de la santé. Cette dérogation ne peut aller au-delà de 2010.

Compte tenu de l'importance du téméphos aujourd'hui pour les opérateurs français de démoustication, et de l'importance de la lutte anti-vectorielle, le MEDD, autorité compétente pour la mise en oeuvre de la directive 98/8 en France, envisage de déposer dans les plus brefs délais une demande d'usage essentiel du téméphos à des fins de traitement des gîtes larvaires en milieu naturel.

Le dossier de demande d'usage essentiel, à réaliser par les autorités compétentes, comporte notamment une synthèse des données disponibles en matière de données physico-chimiques, toxicologiques, écotoxicologiques et d'évaluation des risques pour l'homme et l'environnement de la substance.

Nous sollicitons l'expertise de l'Agence française de sécurité sanitaire de l'environnement et du travail afin de contribuer à la constitution d'un dossier de demande d'usage essentiel, pour le volet évaluation du risque sanitaire et environnemental.

Il s'agit en particulier, dans un premier temps, de réaliser:

- une synthèse des informations disponibles relatives à la physico-chimie de la substance et à ses dangers pour l'homme et pour l'environnement ;
- une évaluation des risques sommaire pour le travailleur, le consommateur, l'homme à travers l'environnement et l'environnement, pour l'usage de cette substance en traitement des gîtes larvaires en milieu naturel.

Cette synthèse et cette évaluation se baseront :

- sur les données générales, disponibles dans la littérature, relatives à la substance, qui seront collectées par l'AFSSET ;
- sur des données, en particulier relatives aux dangers de la substance et à ses modes précis d'utilisation, transmises par les opérateurs de démoustication, les fabricants de la substance ou des préparations, ou issues du dossier relatif au téméphos déposé auprès du ministère chargé de l'agriculture. Ces données seront mises à disposition de l'AFSSET par le ministère chargé de l'environnement au plus tard le 15 février 2006. En ce qui concerne les dangers, il ne s'agira pas de réaliser une validation approfondie des données disponibles, mais bien une première synthèse.

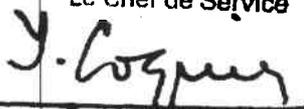
Par ailleurs, l'évaluation des risques consistera en une évaluation générale se basant le cas échéant, en l'absence de données sur l'exposition, sur des scénarios d'exposition génériques relatifs à ce type d'usage.

Si des niveaux de risque étaient identifiés dans cette première approche, leur étude approfondie pourra faire l'objet d'une deuxième étape de travail.

Compte-tenu des échéances très courtes au niveau de la procédure communautaire, nous vous serions reconnaissants de bien vouloir nous faire parvenir dans les 15 jours une note d'étape sur l'organisation de vos travaux et le rapport final avant le 25 mars 2006.

Le directeur général de la santé

Le Chef de Service

  
Dr Yves COQUIN

Le directeur de la prévention  
des pollutions et des risques,  
délégué aux risques majeurs



Thierry GONNET



MINISTÈRE DE LA SANTÉ ET  
DES SOLIDARITÉS

MINISTÈRE DE L'ÉCOLOGIE ET  
DU DÉVELOPPEMENT  
DURABLE

MINISTÈRE DE L'EMPLOI, DE  
LA COHESION SOCIALE ET DU  
LOGEMENT

Direction générale de la santé

Direction de la prévention des  
pollutions et des risques

Direction des relations du travail

Paris le **24 AOUT 2006**

Le Directeur général de la santé

Le Directeur de la prévention des  
pollutions et des risques

Le Directeur des relations du travail

à

Madame la Directrice générale de  
l'Agence Française de Sécurité  
Sanitaire de l'Environnement et du  
Travail  
253 Avenue du Général Leclerc  
94701 Maisons-Alfort

**Objet :** Evaluation comparée des produits larvicides utilisables en lutte anti-vectorielle  
Réf : Votre note du 30 juin 2006 relative à l'évaluation comparée des produits adulticides.

Dans le cadre de la gestion de la crise de Chikungunya sur l'île de la Réunion, nous vous avons saisie le 10 février dernier pour réaliser une évaluation comparée des produits de lutte anti-vectorielle adulticides, en matière de risques pour la santé humaine et pour l'environnement, d'efficacité, une recherche des substituts aux produits à base de fénitrothion et de deltaméthrine.

Nous vous demandons de conduire selon les mêmes principes, et en vous appuyant dans toute la mesure du possible sur les mêmes organismes compétents, une évaluation comparée des produits larvicides susceptibles d'être utilisés en lutte anti-vectorielle selon les axes suivants :

- Identification des substituts disponibles aux substances actuellement mises en œuvre à la Réunion ;
- Evaluation des risques pour le travailleur, le consommateur, l'homme à travers l'environnement et l'environnement pour l'usage de chaque produit en traitement larvicide, en veillant à différencier les impacts suivant le milieu, naturel ou non, de la zone traitée pour la lutte anti-vectorielle ; cette évaluation, éventuellement simplifiée, comprendra notamment une analyse critique du modèle retenu en fonction de la réalité des usages en lutte anti-larvaire.

- Synthèse et comparaison des données disponibles en matière d'efficacité en fonction des conditions de mise en œuvre des produits actuellement utilisés et des produits candidats et en prenant en compte les risques d'apparition de résistances des moustiques à ces produits, ainsi que la réalisation éventuelle de tests d'efficacité des produits.

Nous vous remercions de nous faire parvenir dans les 15 jours une note sur l'organisation de vos travaux, et sous quatre mois le rapport définitif.

Le Directeur général de la  
santé

Le Directeur de la prévention  
des pollutions et des risques

Le directeur de la prévention  
des pollutions et des risques,  
délégué aux travaux majeurs

  
Laurent TICHEL

Le Directeur des relations du  
travail

  
Jean-Denis COMBEXELLE



## NOTE DES AUTORITES FRANCAISES

**Objet : BIOCIDES (directive 1998/8/CE)**

**Demande d'usage essentiel pour la substance active « *téméphos* »**

**P.J. : Avis de l'Agence Française de Sécurité Sanitaire de l'Environnement et du travail (AFSSET) du 30 mars 2006**

**Formulaire de demande d'usage essentiel de biocides dûment rempli**

Conformément à l'article 4 bis du règlement (CE) n°1048/2005, les États membres peuvent solliciter auprès de la Commission européenne une prolongation d'autorisation de mise sur le marché d'une substance active biocide non notifiée, lorsqu'ils estiment que cette substance leur est essentielle pour des raisons de santé, de sécurité ou de protection du patrimoine culturel, ou qu'elle est indispensable au bon fonctionnement de la société en l'absence de solutions de remplacement ou de substituts techniquement et économiquement envisageables, qui soient acceptables d'un point de vue sanitaire et environnemental.

Le « *téméphos* » est une substance active utilisée dans les activités de démoustication, pour la lutte contre les gîtes larvaires. Figurant à l'annexe III du règlement (CE) n°1048/2005, cette substance identifiée n'a pas été notifiée, et devrait, à ce titre, être retirée du marché au 1<sup>er</sup> septembre 2006.

Des opérateurs publics de démoustication français se sont rapprochés du ministère de l'écologie et du développement durable, ainsi que des ministères de la santé et l'outre-mer, afin de solliciter le maintien d'un usage essentiel pour cette substance. Cette substance est en effet utilisée, en particulier, dans le cadre de la lutte anti-vectorielle, dans les départements d'outre-mer (DOM), mais aussi pour le contrôle des populations d'insectes dans le sud de la France, et en particulier sur le littoral méditerranéen.

Les principaux arguments évoqués par ces opérateurs pour soutenir une telle demande d'usage essentiel sont les suivants :

- l'absence de substituts d'efficacité équivalente dans la lutte contre certains vecteurs de maladies vectorielles, et en particulier les anophèles, vecteurs du paludisme ;
- la nécessité de maintenir une panoplie suffisamment étoffée de produits différents, pour pouvoir faire face à d'éventuelles résistances.

La crise actuelle de Chikungunya à la Réunion (département d'outre-mer français), qui a touché plus de 30 % de la population de cette île de 750 000 habitants, a clairement mis en lumière les contraintes spécifiques liées à la lutte anti-vectorielle et l'importance d'avoir à disposition des produits efficaces pour contribuer à la lutte contre la diffusion d'une épidémie. Les autorités françaises souhaitent souligner en ce sens l'importance du maintien de cet usage pour la protection de la santé dans les zones où les maladies vectorielles sont endémiques.

Aussi, les autorités françaises souhaitent-elles que soit maintenue la possibilité de mettre sur le marché la substance active « *téméphos* » pour une utilisation limitée en tant que larvicide pour un usage en lutte anti-vectorielle, et ce jusqu'en 2010.

Cette dérogation concernerait en particulier la lutte anti-vectorielle dans les DOM.

Les autorités françaises souhaitent souligner qu'une évaluation des risques liée à l'utilisation de cette substance a été conduite, à la demande des ministères de la santé et de l'écologie et du développement durable, par l'Agence Française de Sécurité Sanitaire de l'Environnement et du Travail ; la Commission européenne voudra bien trouver en pièce jointe à cette note une copie de cet avis.

De plus, afin de s'assurer d'une part de la conformité de la demande d'usage essentiel avec les termes de la réglementation communautaire, et d'autre part d'une maîtrise valable des risques liés à l'utilisation du « *téméphos* », les autorités françaises demanderont aux utilisateurs de *téméphos* un rapport annuel portant sur :

- les quantités de « *téméphos* » achetées et utilisées dans l'année ;
- le type de traitements effectués, et les zones traitées ;
- des informations sur les mesures prises pour protéger les opérateurs ;
- des informations sur les effets indésirables liés aux traitements ;
- des informations relatives à l'impact environnemental des traitements effectués ;
- les mesures mises en œuvre afin de substituer durablement le *téméphos*, et les raisons pour lesquelles d'autres produits ou techniques n'ont pas été mis en œuvre à la place du *téméphos* au cours de l'année écoulée.

Enfin, les autorités françaises souhaitent rappeler à la Commission européenne que les autorités grecques ont déjà introduit auprès d'elle une demande d'usage essentiel pour cette substance active.

Les autorités françaises prient donc la Commission européenne de bien vouloir trouver en pièce jointe à la présente note leur formulaire de demande d'usage essentiel pour le « *téméphos* » à des fins de lutte anti-vectorielle.



EUROPEAN COMMISSION  
ENVIRONMENT DIRECTORATE-GENERAL

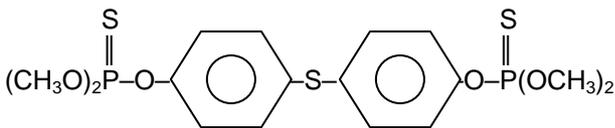
Directorate B – Protecting the natural environment  
B.4 – Biotechnology and Pesticides

ESSENTIAL USE APPLICATION  
FORM FOR BIOCIDES

### 1. MEMBER STATE

Austria	<input type="checkbox"/>	Belgium	<input type="checkbox"/>	Cyprus	<input type="checkbox"/>	Czech Republic	<input type="checkbox"/>	Denmark	<input type="checkbox"/>
Estonia	<input type="checkbox"/>	Finland	<input type="checkbox"/>	France	<input checked="" type="checkbox"/>	Germany	<input type="checkbox"/>	Greece	<input type="checkbox"/>
Hungary	<input type="checkbox"/>	Ireland	<input type="checkbox"/>	Italy	<input type="checkbox"/>	Latvia	<input type="checkbox"/>	Lithuania	<input type="checkbox"/>
Luxemburg	<input type="checkbox"/>	Malta	<input type="checkbox"/>	The Netherlands	<input type="checkbox"/>	Poland	<input type="checkbox"/>	Portugal	<input type="checkbox"/>
Slovenia	<input type="checkbox"/>	Slovakia	<input type="checkbox"/>	Spain	<input type="checkbox"/>	Sweden	<input type="checkbox"/>	United Kingdom	<input type="checkbox"/>

### 2. ACTIVE SUBSTANCE

2.1. Common name	Temephos
2.2. EC and/or CAS N°	EINECS N°222-191-1 ; CAS n°3383-96-8
2.3. Molecular and Structural formula (including details on isomeric composition) – molecular mass	<p>O,O,O',O'-tetramethyl O,O'-thiodi-p-phenylene diphosphorothioate (IUPAC)</p> <p><math>C_{16}H_{20}O_6P_2S_3</math></p>  <p>MM : 466,4</p>
2.4. Method of manufacture (in brief terms)	<p><i>Information from the essential use application for Temephos from Greece :</i></p> <p>Temephos is synthesized by phosphorylating the disodium salt of 4,4'-dihydroxydiphenylsulfide as starting material in alkaline aqueous solution with an excess of O,O-dimethyl phosphorochlorodithionate (DMCT). The phosphorylation is heterogeneous in that DMCT, a dense liquid, is relatively insoluble in the aqueous phase where reaction occurs. Temephos is also insoluble and separates from the aqueous phase as oil phase when it is formed. At the end of the synthesis the mixture is diluted with warm alkaline water to hydrolyze unreacted DMCT. Toluene is then added to extract temephos. After settling, the toluene/temephos layer is separated, filtered and washed to remove suspended solids and residual portions of salt. The washed and filtered toluene solution is stripped of solvent to isolate temephos. After a polish filtration technical temephos is produced having a composition according to the specification.</p>
2.5. Specification of purity in g/kg or g/l as appropriate	500 g/l (Emulsifiable Concentrate) and 1% (Fine Granule)
2.6. Identity of impurities and additives – including stabilisers	Not available
2.7. Origin of substance (in case of a natural substance)	Not relevant (chemical synthesis)
2.8. Physical-chemical properties in accordance with Annex IIA, Point III, to Directive 98/8/EC, as appropriate	<p><b>MELTING POINT, BOILING POINT, RELATIVE DENSITY (ANNEX IIA POINT III.3.1)</b> According to Pesticide Manual, Thirteenth edition Melting point: 30-30.5°C for pure active substance. Boiling point: 120-125°C Relative density: 1.33 at 20°C (BASF)</p> <p><b>VAPOUR PRESSURE (PA) (ANNEX IIA POINT III. 3.2)</b> Vapour pressure: 9.5 10<sup>-6</sup> Pa at 25°C (EPA-g)</p>

Henry constant: 0.148 Pa.m<sup>3</sup>.mol<sup>-1</sup> (EPA-g)

**APPEARANCE (PHYSICAL STATE, COLOUR) (ANNEX IIA POINT III. 3.3)**

Physical state:

Analytical grade: white (BASF) crystalline solid (EPA-g)

Technical grade: brown, viscous liquid (Gharda Chemicals Ltd)

Smell: Weak smell (Gharda Chemicals Ltd), Typical of mercaptan containing organic chemicals (BASF)

**ABSORPTION SPECTRA (UV/VIS, IR, NMR), AND A MASS SPECTRUM, MOLAR EXTINCTION AT RELEVANT WAVELENGTHS, WHERE RELEVANT (ANNEX IIA POINT III. 3.4)**

Intense mass spectral peaks: 466 m/z (100%), 125 m/z (51%), 93 m/z (38%) and 47 m/z (35%) (HSDB)

**SOLUBILITY IN WATER INCLUDING EFFECT OF PH (5 TO 9) AND TEMPERATURE SOLUBILITY, WHERE RELEVANT. (ANNEX IIA POINT III. 3.5)**

Solubility in water is very low:

Solubility in water = 0.03 mg/L at 25°C (Pesticide manual, thirteenth edition)

Solubility in water = 0.01 mg/L (EXTOXNET PIP)

Temephos is soluble in common organic solvents, as diethyl ether, aromatic and chlorinated hydrocarbons. Solubility in hexane is 9.6 g/L (Pesticide manual, thirteenth edition)

**PARTITION COEFFICIENT N-OCTANOL/WATER, INCLUDING INFLUENCE OF PH (5 À 9) AND TEMPERATURE (ANNEX IIA POINT III. 3.6)**

Temephos partition coefficient, log K<sub>ow</sub> = log P= 4.91 (Pesticide manual, thirteenth edition)

**THERMAL STABILITY, IDENTITY OF RELEVANT BREAKDOWN PRODUCTS (ANNEX IIA POINT III. 3.7)**

Temephos is stable in normal conditions of pressure and temperature. By thermal decomposition oxides of phosphorus and sulphur may be formed. (Gharda Chemical Ltd)

**FLAMMABILITY INCLUDING AUTO-FLAMMABILITY AND IDENTITY OF COMBUSTION PRODUCTS (ANNEX IIA POINT III. 3.8)**

Temephos may burn, but does not readily ignite (NEW JERSEY hazardous Substance Fact Sheet)

By combustion, oxides of phosphorus and sulphur may be formed from temephos (Gharda Chemical Ltd).

**FLASH-POINT (ANNEX IIA POINT III. 3.9)**

Flash point > 93°C (closed cup) (BASF)

**SURFACE TENSION (ANNEX IIA POINT III. 3.10)**

Not required as solubility in water <1 mg/L

**EXPLOSIVE PROPERTIES (ANNEX IIA POINT III. 3.11)**

Temephos is not explosive (BASF)

**OXIDISING PROPERTIES (ANNEX IIA POINT III. 3.12)**

Temephos is not expected to have oxidising potential (BASF)

**REACTIVITY TOWARDS CONTAINER MATERIAL (ANNEX IIA POINT III. 3.13)**

No study available

2.9. A summary or toxicological and ecotoxicological information for the substance

**Toxicological information on the substance**

Temephos is an organophosphate insecticide.

Its mechanism of toxicity is primarily by inhibition of the cholinesterase enzymes. This effect is commonly observed in both humans and animals when exposed repeatedly to temephos at sufficient levels.

Temephos was found to be of low acute toxicity with oral and dermal LD<sub>50</sub> which are all more than 4000 mg/kg bw with the exception of one by oral (LD<sub>50</sub> = 1300 mg/kg bw for rat female) dermal (LD<sub>50</sub> = 1300 mg/kg bw for rabbit) or inhalation route (LC<sub>50</sub> > 1.3 mg/L). Temephos is slightly irritating to eyes but not irritating to rabbits skin. The compound is not a dermal sensitizer.

It is readily absorbed and rapidly distributed among tissues and eliminated with a half-time of about 10 hours. By dermal application, the absorption of temephos on rat skin is estimated to be 38%.

By repeated exposure, temephos induces an inhibition of the cholinesterase activity. This effect was reported in both human volunteers and laboratory animals at similar levels. The duration of exposure is deemed to have an influence on the occurrence of this effect. When exposed for 44 days, rats exhibited an inhibition of the red blood cell cholinesterase activity at 10 mg/kg bw/d, whereas rats exhibited an inhibition of the same enzyme from 0.9 mg/kg bw/d when exposed for 90 days. Another significant effect reported in

this 90-day rat study consisted of a decrease of the liver weight at a dose of 17.5 mg/kg bw/d, but this effect was low in magnitude and was not demonstrated in a 2-year study with rats exposed at a similar level.

In the only carcinogenic study available, temephos was not found to induce carcinogenic effects in rats. Temephos is not deemed to induce mutagenic effects, but the studies are too few and available results not sufficiently described. The reproduction toxicity studies available did not exhibit any reprotoxic effects of temephos, but these studies are old and found to be not very reliable. In studies performed with hens, which suffered some limitations, temephos was not showed to induce delayed neurotoxicity.

### Environmental endpoints

Information available on aerobic degradation in soil indicates that Temephos has a low to moderate persistence in soil. Study results give half lives between 12 days (laboratory data, Pesticide Manual) and 30 days (field data, INRA).

According to EPA study, in water-sediment system, half life of temephos has been evaluated to be of 27.2 days as a maximal value (anaerobic system). In water phase, the major identified metabolites were temephos sulphide phenol and temephos sulfone phenol, none of these bear the organophosphate group neither have insecticide action. Two other non-identified metabolites over passed the threshold of 10% of applied radioactivity (AR) in the water phase. In the sediment phase under anaerobic conditions no major metabolite (>10%) was identified.

Under aerobic conditions half life of temephos has been evaluated to 17.2 days in a water-sediment system. There is no major metabolite in the water phase. In the sediment phase a single major and non identified metabolite was detected at a level over 10% AR.

In water the main degradation pathway is photolysis with a half life of 15 days. The only major metabolite was temephos sulfoxide with a maximum occurrence of 11% AR.

At the reverse hydrolysis is not a major degradation pathway with a half life of 460 days at pH7. Hydrolysis increased with pH and no major metabolite was formed (EPA-g)

Adsorption of temephos on soil is very high with Koc estimation from 8 241 to 31 800 (mean calculated Koc value= 22,770).. Consistently with this important adsorption on soil and according to the regional approach with Mackay Model III, the major amount of temephos is likely to be encountered in soil (61% of total amount). Calculation of PEC ground water with FocusPELMO 3.3.2 showed that percolation of temephos is not significant. The threshold of 0.1µg/L is never reached.

Instantaneous and average Predicted Environmental Concentrations had been calculated, taking into account 6 applications rate of 125 g as/ha of temephos, with a time interval between 2 applications of 10 days. The results are the following:

	<i>Initial PEC</i>	<i>PEC after last application</i>	<i>Time weighted average PEC</i>	<i>Units</i>
<i>Surface Water</i>	42	114	55 (42 days)	µg/L
<i>Sediment</i>	-	1489	1467(42 days)	µg/kg dry sediment
<i>Soil</i>	0.014	0.050	0.036 (30 days)	mg/kg wet soil
<i>Soil, agriculture</i>	0.014	0.050	0.012 (180 days)	mg/kg wet soil
<i>Soil, grassland</i>	0.028	0.101	0.024 (180 days)	mg/kg wet soil

### Ecotoxicological information on the substance

#### Aquatic toxicity

The toxicity of temephos has been assessed towards various aquatic species.

Temephos shows a wide range of toxicity to aquatic organisms, depending on the formulation.

Generally the technical grade active ingredient (TGA) is moderately toxic and the emulsifiable concentrate (EC) formulations are highly to very highly toxic. The toxicities of both formulations (EC and CG) are of the same order of magnitude. The formulation EC is slightly more toxic on daphnia and on the pink shrimp.

The most sensitive species are the invertebrate species, and *Daphnia magna* is extremely sensitive (EC50=0.011 . 10<sup>-3</sup> mg/l) (EPA-g). Freshwater aquatic invertebrates such as amphipods are highly susceptible to temephos as are some marine invertebrates. For example, the emulsifiable concentrate is highly toxic to the saltwater species: results with the pink shrimp give an EC50 of 0.005 mg/l (EPA-g).

The most sensitive species of fish is the rainbow trout with a LD50 ranging from 0.16 (formulation EC) to 3.49 mg/kg (TGA). Other LD50 values for temephos are close to or higher than 10 mg/L for the TGA.

Other LD50 values for formulation EC ranged from 1 to and 7 mg/L. The compound is nearly non-toxic to

the bull frog with an LD50 of greater than 2000 mg/kg (EXTOXNET PIP).

Temephos has the potential to accumulate in aquatic organisms (log P > 4). The bluegill sunfish accumulated 2,300 times the concentration present in the water. However, the exposure time under conditions of uses ie in ponds or moving waters is supposed to be very low due to the very high adsorption onto colloids (Koc of ca. 22 000), and the DT50 in the water phase is expected therefore to be of few days or less. In addition, nearly 75% of the compound was eliminated from the fish after exposure ended.

Field studies were assessed by the US-EPA (Environmental Protection Agency). The majority of them are conducted in marine environment, which is not representative of the defended essential use: aquatic tested species are different and not always representative of the environment in which the product is applied. The tested doses are lower than the recommended dose. No additional details are available. However, these studies are important because they show that, in systems more complex than the laboratory conditions, there is an important recovery of the medium in the days or weeks which follow the applications.

Toxicity on birds  
 Acute and short-term toxicity data indicate that the bobwhite quail is the most sensitive species and demonstrate that temephos is relatively toxic by ingestion to birds with an acute LD50 of 27.4 mg/kg b.w. and a dietary LC50 of 92 ppm mg/kg b.w.  
 The acute LD50 are relatively homogenous: 35.4 mg/kg b.w. for House sparrow, 31.5 mg/kg b.w. for Pheasant, 84 mg/kg b.w. for Japanese quail and 80-2150 mg/kg b.w. for Mallard duck.  
 The dietary LC50 are 50.1 ppm for pigeon, 150-170 ppm for Pheasant, 230-270 ppm for Japanese quail, 894-1600 ppm for mallard duck.  
 According to a study of oral ADME (adsorption, distribution, metabolism and excretion) in rats and pigs, excretion is complete within 96 h, 65% in faeces mainly as parent compound, 33% in urine, mainly as 4,4'-thiodiphenol. No acceptable reproductive studies have been submitted, however, field data that has been submitted for review indicate that there is very little, if any, impact on birds.  
 A long-term study based on the frequency of egg-laying led to a NOEL of 1 ppm, i.e. 0.12mg/kg b.w. (EPA database).

Toxicity on mammals  
 Temephos is of low acute toxicity to rats with oral LD50 all higher than 2000 mg/kg bw. Males are slightly more sensitive than females. According to the US-EPA, a NOEL of 0.3 mg/kg/d could be selected for the long-term risk assessment.

Toxicity to bees  
 The acute contact LD50 is 1.55 µg a.s./bee. Because the product is applied directly on water in the application mode, we consider that the risk for bees is due to the contamination on the adjacent zone of the treated area by the drift of spraying. The risk towards bees may be assessed with the calculation of hazard quotients (HQ), based on the ratio of the maximum applied dose (in g a.s./ha) to the LD50 (in µg a.s./bee). As the hazard quotient is lower than the trigger values of directive 97/50 (<50), there is no potential risk for bees at the application rate (125 q.a.s/ha).

### 3. AVAILABLE INFORMATION ON THE ESSENTIAL USE

3.1. Product type and use(s) for which the derogation is required

The product type for which the derogation is required is product type 18 : "Insecticides, acaricides and products to control other arthropods".  
 The use covered by the derogation is the larval control against arthropod vectors of diseases such as malaria, dengue fever, and other arboviruses like chikungunya or west Nile virus.

The formulations used in France for public health mosquito control are :

Brand Name	Temephos, AS.	Application Dose of the product
Abate® 10 Fogging	100 g/l	1,2 l p.c./ha
Abate® 500 E moustiques	500 g/l	0,25 l p.c./ha
Larviphos® 500 EC	500 g/l	0,25 l p.c./ha
Abate® 1% granulés moustiques	10 g/kg	12,5 kg p.c./ha

3.2. Method(s) of application

Products can be applied either by aerial, or by terrestrial methods, depending on the type of treatment.

Ground applications are generally Ultra Low Volume (< 5 l/ha), Very Low Volume (5 to 49 l/ha), and in some cases low volume (50 to 199 l/ha). They can be made either with hand held equipment, or with spray mounted on caterpillars or pick-ups.

Aerial applications are always Ultra Low Volume. Aerial applications are necessary when the breeding

sites are either difficult to reach by ground, or when they are too large (larger than 20 to 25 ha).

### 3.3. Number and timing of applications

The number and timing of applications depends on the type of breeding site that has to be treated and on the frequency of the dry ponds being filled with water, either because of weather conditions (ex: rain), irrigation, or high tides

Certain breeding sites may only be treated once every three years.

In southern France, the average treatment of breeding sites is 2.5 times a year, but some of them can be treated up to 15 times a year.

In the case of epidemic outbreaks specific treatment strategies must be implemented, that require regular local interventions, up to several times in a couple of weeks, and regular interventions thereafter, in order to keep the larval population under strict control.

The choice of temephos for such treatments can be based on the age of the larvae, the risk associated with a failure in a treatment or the weather conditions. Temephos can be active in a very short time span, whereas other substitutes may need more time to be effective.

### 3.4. Classification & Labelling

*Information from the essential use application for Temephos from Greece :*

According to the European directive for the pesticides classification and labelling, 1999/45,

-Temephos 500 g/l EC formulation is proposed as "Flammable, Harmful - Xn, Irritating - Xi, Dangerous for the Environment – N " with the Risk phrases "R10 – Flammable, R20/21 – Harmful by inhalation and in contact with skin, R36/38 – Irritating to eyes and skin, R50/53 – Very toxic to aquatic organisms, may cause long-term adverse effects in the aquatic environment, R65 – Harmful: may cause lung damage if swallowed ", and

- Temephos 10 g/kg SG formulation is proposed as "Irritating - Xi, Dangerous for the Environment – N " with the Risk phrases "R36 – Irritating to eyes, R50/53 – Very toxic to aquatic organisms, may cause long-term adverse effects in the aquatic environment ".

### 3.5. Available data on effects on human or animal health and the environment (including exposure and risk assessment and proposals for risk mitigation) from the use

*This information and the following risk assessment are based on the available data.*

#### **Effects on human**

Few health-effect studies in humans have been conducted on temephos, and no effects have been reported (HSDB 2003). Nevertheless, it acts as an organophosphate cholinesterase inhibitor, for which much literature is available. Health effects from a typical cholinesterase inhibitor are as follows:

- Common early signs or mild symptoms of acute cholinergic poisoning include miosis (pinpoint pupils), headache, nausea/vomiting, dizziness, muscle weakness, drowsiness, lethargy, agitation, and anxiety.
- Moderate or severe poisoning can result in chest tightness, difficulty breathing, bradycardia, tachycardia, hypertension, pallor, abdominal pain, incontinence, diarrhoea, anorexia, tremor/ataxia, fasciculation, lacrimation, heavy salivation, profuse sweating, blurred vision, poor concentration, confusion, and memory loss.
- Life-threatening or very severe signs and symptoms, such as coma, seizures, respiratory arrest, pulmonary oedema, loss of reflexes, and flaccid paralysis, can occur at high doses, such as in the cases of attempted suicide.

Effects of temephos on humans have not been reported in the literature, presumably because of its low acute toxicity (ATSDR, 2005).

#### Human exposure through drinking water

A 19-month study was conducted with temephos added to all cisterns and other potable water containers in a community of approximately 2,000 people (Laws et al., 1968). The treatment occurred once a month and consisted of 1% temephos adsorbed to sand, in sufficient quantity to achieve a calculated concentration of 1 ppm (19 g of sand per 50 gallon/188 liter drum). Only one water sample ever had a Temephos concentration >0.5 ppm, attributable to the combined effects of adsorption, solubility, and dilution over time. No significant change was measured in either plasma or erythrocyte cholinesterase of the villagers at any time during the 19-month study. Urinary excretion of temephos reached steady state after 4 months. No illness attributable to the insecticides occurred, and all of eight babies born were normal.

Human volunteer study

Humans who ingested 256 mg/day for 5 days or 64 mg/day for 4 weeks had no symptoms or any detectable effects on plasma or erythrocyte cholinesterase activity (Laws et al. 1967). At 70 kg for an adult, the doses are equivalent to 3.7 mg/kg/day for 5 days or 0.9 mg/kg/day for 4 weeks. When the standard water ingestion rate of 2 liters/day and the solubility of temephos (<1 ppm) are considered together, adult humans would be expected to receive <2 mg/day (0.028 mg/kg) from drinking water treated with Temephos. This scenario is extreme because daily water treatments are unlikely, so concentrations of temephos would decrease between treatments. The concentrations may be considerably below saturation (~1 ppm) even at their peak (the time of treatment). Given the no-observed-adverse-effect level (NOAEL) of 64 mg/day for 4 weeks, temephos is not expected to present a health hazard when used for larvicide water treatment.

Dermal exposure

A 2% formulation of temephos in pyrax powder was applied to participants and their bedding from a shaker (57 g, equivalent to 1.1 g of temephos) or to clothed subjects from a powder duster (31 g, equivalent to 0.62 g) for an unknown duration (Steinberg et al. 1972). The treatment was considered safe although no specific criteria are indicated.

Occupational exposure

Cholinesterase Monitoring: The Lee County Mosquito Control District in the US has submitted limited monitoring data from their cholinesterase testing program to EPA. Data were submitted for four job categories – inspector, aircraft mechanic, mixer/loader, and pilot. Each job category is represented by one individual. Blood samples were taken at intervals of approximately six months to one year from 1993 to 1995 yielding three or four samples per individual. Plasma and red blood cell cholinesterase levels were measured and expressed as a percentage of the reference range. For plasma cholinesterase “normal” values range from 42 to 158 percent and for red blood cell cholinesterase “normal” values range from 71 to 130 percent of the reference level.

Summarized results for these four individuals are presented in Table A.

*Table A. Results of cholinesterase sampling of four individuals (1 or 2 samples per year) representing four different job categories.*

*Job Category  
Number of  
Samples  
Sample Years  
Plasma ChE  
(% of Reference Range)  
Red Blood Cell ChE*

*(% of Reference Range)*

*Inspector*

4  
1993  
– 1995  
115 –  
125  
106 –  
120

*Aircraft Mechanic*

3  
1993  
– 1995  
78 –  
85  
96 –  
104

*Mixer / Loader*

3  
1993  
– 1994

70 –  
114  
98 –  
114

*Pilot*  
3

1993  
- 1994  
80 –  
98  
114 –  
124

The data in Table A show that the cholinesterase levels of the four individuals tested from 1993 to 1995 were within the reference range for the general population in the United States for all samples. These data have limited utility in addressing the cholinergic effects of organophosphate pesticides, specifically temephos, on the workers for the following reasons:

- Representativeness of four individuals to other member of the same job category is not established.
- Complete occupational exposure history to organophosphate pesticides is not known. A detailed description of how, when and for how long the pesticide was handled/applied prior to sample collection is not provided. Information such as percent active ingredient, formulation, dilution factors, concentrations of all impurities, inerts or other added ingredients is not known.
- Complete non-occupational exposure history to other cholinesterase inhibiting chemicals is not known. Examples of these other chemicals are organophosphates or carbamates used in and around the home.
- Baseline plasma and red blood cell cholinesterase levels were not established for each individual. While the cholinesterase levels in Table A are within the range of that for the general United States population, each individual has their own unique normal range.
- Comparisons between a given individual's plasma cholinesterase level and the reference population mean value is uninformative. For example, the mixer/loader in Table A had a plasma cholinesterase level of 70 percent of the reference level. This value could be interpreted as a 30 percent depression (as compared to the reference level), or as a normal value (if the individual's pre-exposure baseline level is lower than the reference level).
- The health history of subjects is not known. Confounding variables such as smoking status, diet or medication use or other exposures are not addressed. Further, the subjects were not assessed for possible clinical signs (symptoms of cholinergic effects) following pesticide activity such as self-reporting questionnaires and more quantifiable measures (e.g., blood pressure, heart rate).
- A non-exposed group (control) of individuals was not sampled. While it is important to establish the pattern of individual baseline (pre-treatment) blood levels, a separate control group needs to be established to compare values as well as to provide statistical comparisons.

#### Evaluation of the most relevant NOEL for the risk operator assessment

A 38% dermal absorption has been determined in rat. However, no information is available on the tested formulation which is likely to be a solid formulation.

Considering the high level of penetration, the non-GLP character of the study and the fact that only a summary is available, a dermal penetration factor of 50%, based on an expert judgement, is proposed for the operator exposure evaluation.

Operators are likely to be exposed several days per week during several weeks, if not months in case of important outbreak of vector born disease.

The most sensitive adverse effect appears to be RBC ChE inhibition.

One of the most relevant studies is the 28-day human study by oral route (Laws et al.1967). In this study, no clinical symptoms or RBC ChE inhibition have been reported at a daily dose of 0.9 mg/kg bw/day.

This study is consistent with the 44-day rat study in which the NOAEL is 1 mg/kg bw/day (Gaines et al., 1967) which tends to demonstrate that rat and human are similarly sensitive to ChE inhibition effects of temephos. However, exposure duration may be short compared to expected duration and in the 90-day repeated oral rat study, 0.9 mg/kg bw/day appears to be a LOAEL. In the repeated study available, 0.3 mg/kg bw/day is the NOAEL.

NOAEL was fixed at 0.3 mg/kg bw/day.

#### Assessment factors applied for the calculation of refMOS for subchronic toxicity

**Assessment factors****Value***Interspecies*

1

Several studies are available in Human. They all indicate that, as for most organophosphate insecticides, rat and human have similar sensitivity)

*Intraspecies*

5

(workers are considered as a more homogeneous population than the general population. Although there is no indication that some parts of the population are more sensitive to this type of insecticide, a factor of 10 can be used for bystander)

*Exposure duration*

2

(NOAEL clearly tends to decrease with the duration of the study and exposure of the operators may last more than 90 days)

*Route-to-route extrapolation*

1

(taken into account by dermal penetration)

*Quality of the database*

3

(non GLP studies and only summaries available)

*refMOS*

30

Risk assessment for the operator (considering the above NOAEL and refMOS)

Temephos will be applied for larval control of mosquitoes. The application equipment used for these applications is close to the one used for pesticide application. For this reason, models derived from agricultural technology will be used.

The following models will be used:

*UK POEM:*

This model is derived from studies conducted in UK in the early 80th. These were mainly non-GLP studies and the raw data are no more available. This model is considered as very conservative. However, as it is a recognised model in the EU, these results will be presented when it is relevant for one of the uses.

*BBA Model:*

This model is derived from studies conducted in Germany in the 80th. These were mainly non-GLP studies and the raw data are available. This model is considered as moderately conservative. However, as it is a recognised model in the EU, these results will be presented when it is relevant for one of the uses.

*EUROPOEM II:*

This model has been built by a team of academics, regulators and industry under an EU contract. The model comprises the results of 78 studies which were available to the group. The results, as presented at the end of the contract, have been considered by the Commission as too variable to be easily usable by regulators. However, these data are available at the following address: <http://europoem.csl.gov.uk/> and it is useful when results have to be refined or when it is the only source of exposure data for an use.

*PHED V 1.1 February 1995.*

This model has been built by North American regulatory agencies and industry. The model comprises about 1800 replicates for very different types of uses. This model is currently used in North American and some of the uses modelled are relevant for use in other countries.

The MOS are calculated according to the scenario and the model used with the maximum precautions (Gloves M/L & Applic. & Cover): An application rate of 125 g as/ha was considered in all calculations.

**Scenario**

	Area treated / day
	POEM
	BBA
	EURO POEM II
	PHED
<i>Granules applied with a Spoon</i>	- No model No model No model No model
<i>Pre-Pressure Hand Held</i>	3 ha 0.49 12.3 No model No model
<i>Air Assisted Spray</i>	20 ha 0.6 9.6 No model 78.34
<i>Non Air assisted Spray</i>	5 ha No model No model 0.93 20.7
<i>Aerial Application</i>	400 ha No model No model No model 108.3
<p>The use of risk mitigation measures for occupational handlers (i.e., maximum PPE and engineering controls) results in MOS greater than the RefMOS of 30 with at least one model for the following scenarios:</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• Air Assisted Spray on quad bike or caterpillar without cab.</li> <li>• Aerial application</li> </ul>	
<p>The use of risk mitigation measures form occupational handlers (i.e., maximum PPE and engineering controls) results in MOS less than the RefMOS of 30 whatever the model used for the following scenarios:</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• Pre-pressure hand held equipment with 5l tank.</li> <li>• Non air assisted Spray monted on a 4WD pick-up.</li> </ul>	
<p>The use of risk mitigation measures form occupational handlers (i.e., maximum PPE and engineering controls) could not be evaluated for the following scenario:</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• Granules with a spoon.</li> </ul>	
<p><b>Proposed mitigation measures :</b></p> <p>This risk assessment is based on the available data, approximations have been made to cover the lack of information. The model used are derived from agricultural area, and are not totally adapted to evaluate this specific use of temephos.</p> <p>Specific mitigation and monitoring measures will be taken for workers (See <i>Section 7 – Other information</i>).</p>	
<p><u>Risk assessment for the by-standers</u></p> <p>For re-entry exposure, there is probably no exposure with granule and when the product is applied using pre-pressure hand held equipment with 5l tank.</p> <p>Exposure when using non air assisted Spray mounted on a 4WD pick-up is considered as acceptable.</p>	

When using air Assisted Spray on quad bike or caterpillar, the models gives unacceptable exposure but this is mainly due to the use of a very conservative model.

Exposure by direct spray during aerial application is expected to be borderline, then exposure due to simple drift should be acceptable.

## Effects on the environment

### Risk assessment for aquatic organisms

The most sensitive species is the invertebrate species and *Daphnia magna* is extremely sensitive with an EC50 = 0.011 µg/L (study conducted with formulation EC).

Freshwater aquatic invertebrates such as amphipods are highly susceptible to temephos as are some marine invertebrates..

Data are available for several fish species, invertebrates, molluscs and crustacean. Because the substance was tested on various species one of which being 1000 times more sensitive than the others, it may lead to reduce the assessment factor to 100 instead of the 1000 assessment factor that would have to be used with 3 acute toxicity results.

Then, the calculated PNEC is: PNEC<sub>temephos</sub> = 1.1.10<sup>-4</sup> µg/L

PEC<sub>surface water</sub> = 0.114 mg/L

PEC/PNEC using these conservative figures indeed would lead to a serious concern to aquatic organisms especially under the proposed conditions of uses. Aquatic invertebrates (or copepods) are considered the most sensitive species, to the exception of larvae of insects and will demonstrate these populations at risks when temephos is used as recommended. Due to its environmental properties (low solubility in water, high adsorption onto colloids, fast dissipation in water phase and in the whole water sediment system) the impact would be limited in time and recuperation was shown to occur within weeks. Therefore a PNEC mesocosm would be a more reliable end point to take into account these properties. However, there is actually no field study that could be used for a refined risk assessment or a reflexion on conditions for mitigation of risk.

### Non-target terrestrial animals toxicity

Because Temephos is only applied directly to water, it is not expected to have a direct impact upon terrestrial animals. Birds and mammals are not exposed to the formulation by feeding contaminated plants or plant part. Terrestrial animals may be exposed to temephos via drinking water.

Additionally, due to the tendencies for temephos to bioconcentrate, a piscivorous bird or mammal scenario is proposed to assess the risk to fish-eating birds and mammals.

### Risk for drinking water

Species that frequent open water bodies are liable to ingest residues of active substances that reach water. The exposure concentration in this case is equal to PEC<sub>surface water</sub> (0.114 mg/L). In some situations, some species may obtain all their daily water demand directly from puddles of spray liquid. Because the product is directly applied on the water surface, the exposure concentration is calculated from the applied dose, without dilution or drift.

The daily water intake is calculated allometrically as follows (Calder and Braun 1983) :

- For the birds: Total water ingestion rate (L /day) = 0.059 W<sup>0.67</sup>
- For the mammals: Total water ingestion rate (L/day) = 0.099 W<sup>0.90</sup>

With W=body weight in kg

Thus, the daily dose of active substance is calculated as (PEC<sub>drinking water</sub> \* total water ingestion rate) / bodyweight.

The TERs (toxicity to exposure ratio) are calculated for the case of a 1200 g-bird and a 350 g-mammal for which long-term toxicity data are available. Results of the calculation indicate that the amount of temephos that birds would be exposed to through normal water intake is much less than the potentially lethal concentration, and thus not of concern.

### Risk for fish-eating birds

A value of log Pow higher than 3 may signify a bioaccumulation risk through the trophic chain. The log Pow of temephos is 4.91. Then the bioaccumulation risk is assessed through two food pathways by birds according the Guidance Document of the European Commission SANCO/4145. Residues in fish may be estimated from PEC<sub>sw</sub>, <sub>twa</sub> at 21 days (77 µg/L) and daily doses are calculated for a 1000 g-bird and a 3000 g-mammal, the relevant species recommended by the guidance document (SANCO/4145/2000).

The calculated TERs are widely lower than the trigger value. Therefore, a potential risk for fish-eating birds and mammals is predicted.

However field data in the literature indicate that there is very little, if any, impact on birds. In fact the

mitigation of this calculation includes that the dissipation in water of the active substance is rapid, the depuration of the active substance present in fish tissues is also fast and nearly complete, therefore chronic exposure is not likely to occur limiting the potential for secondary poisoning or effects to fish eating birds as well as mammals. (EPA-g).

#### Toxicity to bees

The acute contact LD50 is 1.55 µg a.s./bee. Because the product is applied directly on water in the application mode, we consider that the risk for bees is due to the contamination on the adjacent zone of the treated area by the drift of spraying. The risk towards bees may be assessed with the calculation of hazard quotients (HQ), based on the ratio of the maximum applied dose (in g a.s./ha) to the LD50 (in µg a.s./bee). As the hazard quotient is lower than the trigger values of directive 97/50 (<50), there is no potential risk for bees at the application rate (125 q.a.s/ha).

#### **Proposed mitigation measures :**

These risk assessments are based on the available data, and the use of temephos for larval control is a very specific use of this substance. Specific mitigation and monitoring measures will be taken (See *Section 7 – Other information*).

### 3.6. Information on efficacy

Temephos is a substance recommended by WHO, and there are numerous international publications related to the efficacy of this substance for the control of mosquitoes larvae.

In 2002, both laboratory and field efficacy tests were conducted in France for the formulation Larviphos 500 EC (studies conducted by EID-Méditerranée for SPCI, n°EID02033, biotests OMS envers *Aedes aegypti* and n°EID02034, essai en parcelle envers *Oc. caspius*). In both cases, the product appeared to have good efficacy during a sufficient period of time.

## 4 - JUSTIFICATION OF THE ESSENTIAL USE

### 4.1. Significance of the harmful organism

The mosquitoes issues are not the same in all the European countries, and is linked to local conditions (ie climate, weather conditions, urbanization, presence of marshy zones etc...) and to the population of mosquitoes (*Culex*, *Anopheles*, *Aedes*...).

#### **In continental France**

Some species, that can be vectors for diseases are present in continental France : anopheles, that are vectors for malaria or *Culex* (*Cx. pipiens*, *Cx. Modestus*) that are know to be vectors for West Nile virus.

#### **In overseas Departments and Mayotte**

In all French overseas departments (Guyane, Guadeloupe, Martinique, Réunion) there are cases, or possibilities of introduction of major vector-related diseases such as malaria or dengue fever. In the case of dengue fever it is transmitted by *Aedes aegypti*, which is also a vector for chikungunya (Réunion, Mayotte) and yellow fever (Guyane). This mosquito is diurnal, endophile and anthropophile, and larval control is essential.

There is at present no vaccine or specific treatments for most of such viruses, whose expansion is facilitated by growing international trade, travels, urban growth, and tropical climate.

Concerning dengue fever, in 2001, serotype 3 circulated in the Caribbean : in Martinique alone there were 24,000 cases and 4 deaths. In Guyane, there are regular epidemic breakouts, and a global endemic status of the disease. Since December 2005 there has been a serotype 2 epidemic breakout : there have already been more than 1,500 people affected out of which 58 have been hospitalized. Three children have already died so far.

In Guyana there are around 3,000 to 5,000 cases of malaria every year, which lead to several deaths per year. Dengue and malaria are endemic diseases, which can surge anytime, and can be lethal.

In The island Réunion has been facing during the Austral summer 2005-2006 an epidemic of Chikungunya, , which is a vector disease transmitted by *Aedes albopictus* : more than 240,000 people affected, out of a population of 750,000. Mayotte is also facing th epidemic today with more than 6,000 cases up to date.

In such cases, having a sufficient panel of insecticides is essential, to face potential resistance problems, and certain efficacy issues. Temephos is part of the basic panel of larval control products, which is narrow.

### 4.2. Importance of the intended use and estimated scale of use - maximum quantity of active substance per year

#### **In continental France**

The areas concerned today by the use of Temephos are mainly the coastal areas of the Mediterranean, and the Atlantic ocean. In the Mediterranean, the quantity of temephos used in 2005 was 3,632 kg. Such a dose is a maximum of the quantity that will be needed in the near future, as all present uses of temephos are not covered by the essential use derogation request.

On the Atlantic coastal areas, around 500 kg are used each year. Such a dose is a maximum, as all present uses of temephos

are not covered by the essential use derogation.

#### **In overseas departments**

The essential use derogation must cover all overseas departments : Guadeloupe and Martinique are subject to dengue fever and West Nile virus, Guyane is subject to malaria and dengue fever, and Réunion had a Chikungunya breakout in late 2005 and early 2006, which rages now in Mayotte, and a risk of re-introduction of malaria. No precise figures on the quantities used today are available.

4.3. If the essential use is not permitted, what would be the consequences for health, safety, protection of cultural heritage or the functioning of society (including cultural and intellectual aspects)?

The recent breakout of Chikungunya in the Réunion island, which rages now in Mayotte island, illustrated the risk associated to vector related diseases and the rapid surge they can have.

Temephos is an essential element of the panel of products used today for the control of vector related diseases: in such cases maximal efficiency must be achieved in a minimal time, and minimal resistance must be pursued.

If temephos is not available anymore there will be no efficient product against *Anopheles*, which is the vector of malaria and currently used in Guyane. In the case of other applications, temephos is the only product that can have an effect on all larval stages: *Bti* in particular, acts mainly through ingestion, whereas temephos is a contact insecticide.

WHOPES recommends that a sufficient panel of insecticides be available in order to be able to manage any identified resistance.

Temephos is active on all larval stages (1st – 4th) of mosquitoes' species, including the *Anopheles spp.* that contributes significantly to important vector diseases risk.

Temephos is highly soluble in water and readily available at low dose rates for biological efficacy, when applied to still water surfaces. This feature renders temephos more effective on *Anopheles spp.* last instar larvae, as this species is moving across the water profile (up and down). The low water solubility of Insecticide Growth Regulators and *Bacillus thuringiensis* compounds result in lower effectiveness due to binding on dispersed solids into water (clay, organic materials) followed by deposition as well as in requiring the use of very high rates to attain sufficient effectiveness.

Temephos has a fast biological activity that shows efficacy during the first 24 hours after application. Insecticide Growth Regulators and *Bacillus thuringiensis* products have a slow mode of action, making difficult the evaluation of effectiveness of applications and the decision on further applications, with the risk for prolonged mosquitoes' infestations.

Temephos is providing sustainability of cost effective and highly efficient mosquitoes controlling programmes, particularly of the important *Anopheles spp.* genus.

Temephos provides good resistance management of mosquito populations when used alternately to the *Bacillus thuringiensis* products.

4.4. Need for the biocidal product / active substance in resistance or other pest management programmes (for example integrated pest management)

In Continental France, a multi-resistance (fenitrothion, chlorpyrifos, *Bacillus sphaericus*) has been identified in urban populations of *Culex pipiens molestus*. They can only be managed through the joint use of temephos and Bti for the larval control. Without temephos alternance will be no longer possible. A possible resistance of *Aedes albopictus* has also to be prevented : cases of resistance in that specie have already been identified.

In overseas departments, resistance may be related to two main species : *Aedes aegypti* et *Aedes albopictus*. Temephos is today an important part of the resistance management scheme.

## **5 - WHY THE USE OF THIS ACTIVE SUBSTANCE IS ESSENTIAL**

5.1. Active substances currently used (elsewhere in the EU/worldwide) to control the problem described in 4.1. and their approval/authorisation status

The main active substances used in France for larval control are :

- *Bacillus thuringiensis* ser. *israelensis* H14 (Bti)
- Téméphos (Abate<sup>®</sup>)
- Diflubenzuron (Dimilin<sup>®</sup>)

and for adult control : Fénitrothion (Paluthion<sup>®</sup>), Deltaméthrine (K-Othrine<sup>®</sup>)

In the EU, the following substance is also used :

- Pyriproxyfen

In the United States, the following substances can also be used as insecticides :

- Methoprene (Annex III of Regulation CE 2032/2003)
- Pyrethrins
- Surface oils

WHO recommends also a certain number of substances, such as temephos.

5.2. Evidence that there are no available technically and economically feasible alternatives or substitutes that could be acceptable from the standpoint of environment and health

- Temephos has proven its efficacy for the control of mosquito larvae.
- It is absolutely necessary to keep a sufficiently broad panel of insecticide products to overcome potential resistance problems.
- Above active substance notified for PT18, there are very few notified substances that could be used for larval control of mosquitoes.
- The most common larvicide used in France, besides temephos, is Bti (*Bacillus thuringiensis ser. israelensis* serotype H14). Bti acts mainly through ingestion, whereas temephos is active by contact. The efficacy of Bti is thus limited by a certain number of external factors, one of the most important being the fact that it is not efficient on larvae that have reached a certain age (older than L4).
- One alternative today could be spinosad, a biological insecticide. This substance is still being tested by WHO (WHOPES) and its use could not start before three years.
- Other possible alternatives could be Insect Growth Inhibitors – IGR, such as diflubenzuron. For those products there can be a long delay between the date of the treatment; and the date when the results can be observed, and it may be too late, then, to treat larvae a second time. Non-target organisms may be affected, as such products can target all holo- and heterometabolous arthropods.

## 6 - PROPOSED PLAN FOR A MORE PERMANENT SOLUTION

6.1. Evidence of a plan to submit a dossier for the evaluation and inclusion of the active substance in one of the annexes to Directive 98/8/EC wetlands.

No such evidence can be given

6.2. Any outline of work carried out to develop an alternative or substitute to the active substance

There is on-going work to replace temephos for larval control.

The share of Bti in the different treatments has been growing for the last years in France.

There seems to be a commitment by Dow Agrosciences to develop spinosad as a larvicide. Field tests should begin in France in 2006.

An evaluation of the impact of the use of spinosad is on-going under the national ecotoxicology research program PNETOX III. Under this program the main larvicides (Bti, temephos, diflubenzuron, spinosad) will be studied and compared.

Some other possible options are under study, but have proven to be inefficacious, such as TMOF – trypsin modulating oostatic factor. One of the main areas of research is the quest for new formulations for “bioinsecticides”, such as Bti.

## 7- OTHER INFORMATION

- E.g.:
- Steps that are being taken to minimise the proposed uses
  - Steps to minimise the emissions and human exposure associated with the proposed uses and waste management related to the biocidal product
  - Acceptability of the active substance in light of the criteria in Annex VI of Directive 98/8/EC

The essential use derogation covers the use of temephos in larval control against arthropod vectors of diseases such as malaria, dengue fever, and other arboviruses like chikungunya or west Nile virus. It is a significant reduction of present day uses, as temephos is still used today in most current mosquito control programs.

A precise monitoring will be implemented in order to follow strictly :

- the amount of temephos sold and used in France for larval control of mosquitoes;
- the type of treatments conducted, and the treated areas;
- the risk reduction measures implemented to protect workers, who are the main population exposed to the product ;
- information on any undesired effect of the product ;
- information on any environmental impact of the treatments.

## REFERENCES

- EPA-a : EPA Memorandum from September 23, 1999: Revised (phase 4) occupational and residential exposure. Assessment and recommendations for the reregistration eligibility decision document for Temephos (PC Code 059001; DP Barcode D240191-2) from Jonathan Becker, Ph.D., Environmental Health Scientist; Reregistration Branch II; Health Effects Division (7509C)
- EPA-b : EPA Memorandum from January 27, 1999: Dermal Penetration of Radio-labeled Temephos from Nicole Paquette, PH.D. Reregistration Branch II; Health Effects Division (7509C)
- EPA-c: EPA Memorandum from September 29, 1999: TEMEPHOS: Revised HED Chapter for the Reregistration Eligibility Decision (RED) Document. PC Code: 059001. From Jonathan Becker, Ph.D. Reregistration Branch 2; Health Effects Division (7509C)
- EPA-d : EPA Memorandum from May 12, 1998: TEMEPHOS - Report of the Hazard Identification Assessment Review Committee. From David S. Liem, Ph.D. Reregistration Branch II Health Effects Division (7509C)
- EPA-e : EPA Memorandum from 21 May 1998: Occupational and residential exposure assessment and recommendations for the reregistration eligibility decision document for Temephos. From: Jonathan Becker, Ph.D., Environmental Health Scientist. Reregistration Branch II. Health Effects Division (7509C)
- EPA-f : EPA Memorandum from July 6, 1998: TEMEPHOS: HED Chapter for the Reregistration Eligibility Decision (RED) Document. Chemical No. 059001 Case No. 0006 Barcode D243362. From Nicole C. Paquette, Ph.D. Risk Assessor. Reregistration Branch 2. Health Effects Division (7509C)
- EPA-g : US EPA Memorandum HED Chapter for the Reregistration Eligibility Decision (RED) Document. Chemical No. 059001 Case No. 818974 Barcode D240786. From Goodyear J.J. Biologist. Evans W. Biologist., Parker R. Senior environmental engineer, Termes S.C. Chemist. Environmental fate and Effects Division (7507C).
- EXTOXNET (2002). Pesticide information profile for Temephos. Available at <http://pmep.cce.cornell.edu/profiles/extoxnet/pyrethrins-ziram/temephos-ext.html>. Accessed December 2, 2002; PIP "published" September 1993 and "last modified" December 19, 2001.
- EXTOXNET PIP – TEMEPHOS\_260106: <http://extoxnet.orst.edu/pips/temephos.htm>
- HSDB (2003). Hazardous Substances Databank: Temephos. National Library of Medicine, National Toxicology Program. Available at <http://www.toxnet.nlm.nih.gov/cgi-bin/sis/htmlgen?HSDB>. Accessed February 19, 2003.
- Toxicologic Information About Insecticides Used for Eradicating Mosquitoes (West Nile Virus Control) April 2005. Prepared by: U.S. DEPARTMENT OF HEALTH AND HUMAN SERVICES Agency for Toxic Substances and Disease Registry. Division of Toxicology Atlanta, Georgia
- Blinn RC (1969). Metabolism fate of abate insecticide in the rat. J. Agric. Food Chem. 17, 118-122
- Gaines TB, Kimbrough R, Laws ER Jr (1967). Toxicology of Abate in laboratory animals. Arch Environ Health 1967; 14: 283-8.
- Hayes, Wayland J, Jr (1982) Pesticides Studied in Man. Baltimore/London: Williams and Wilkins, 1982., p. 376
- HSPA Letter (1976), HSPA-H, US Army Health Services Command, Investigational. New Drug Application for Abate Pediculicide, US Army Environmental Hygiene. Agency (USAEHA), Aberdeen Proving Ground, MD, Study # 75-51-1302-80, October 20, 1976. Unpublished Study.
- Laws ER Jr, Morales FR, Hayes WJ Jr, et al. (1967). Toxicology of Abate in volunteers. Arch Environ Health 1967; 14: 289-91.
- Laws ER Jr, Sedlak VA, Miles JW, Romney-Joseph C, Lacomba JR, Diaz-Rivera A. (1968). Field study of the safety of Abate for treating potable water and observations on the effectiveness of a control programme involving both Abate and Malathion. Bull. World Health Org. 38:439-45.

- Levinskas GJ, Shaffer CB (1970). Toxicity of Abate, a mosquito larvicide, and its sulfoxide. *Toxicol Appl Pharmacol* 1970; 17: 301-2.
- Steinberg M, Cole MM, Miller TA, Godke RA (1972). Toxicological and entomological field evaluation of Mobam and Abate powders use as body louse toxicants (Anoplura: pediculidae). *J Med Entomol* 9:73–7.
- BASF, internal communication, 2006
- Agence Nationale pour la Démoustication et la Gestion des espaces naturels démoustiqués (ADEGE) - France
- Entente Interdépartementale de Démoustication Méditerranée (EID Méditerranée) - France.
- Gharda Chemical Ltd. Safety data sheet. Last version : 15.05.2002.
- Hazardous substance data bank (HSDB). Database of the National Library of Medicine's TOXNET system (<http://toxnet.nlm.nih.gov>) on January 26, 2006.
- INRA. Agritox Database : <http://www.inra.fr/agritox/>
- Mackay, D.2001. "Multimedia Environmental Models: The Fugacity Approach - Second Edition", Lewis Publishers, Boca Raton, pp.1-261.
- New Jersey department of health and senior services. April 1986. Revision May 2000. Temephos Hazardous Substance Fact Sheet. <http://www.state.nj.us/health/eoh/rtkweb/1780.pdf>
- Structure Scientifique Mixte – Versailles (<http://www.versailles.inra.fr/ssm/>). Evaluation du risque environnemental des produits phytopharmaceutiques. Révision 6-5, octobre 2004. Commission d'étude de la toxicité des produits antiparasitaires à usage agricole et des produits assimilés des matières fertilisantes et des supports de culture.
- Technical guidance document in support of commission directive 93/67/EEC on risk assessment for new notified substance and commission regulation (EC) N° 1488/94 on risk assessment for existing substance (TGD). Part II. Chapter 3. European Commission. EUR 20418 EN/2.
- *The pesticide Manual*. C D S Tomlin (editor). Thirteenth Edition. 2003.
- Wauchope, R. D., Buttler, T. M., Hornsby A. G., Augustijn-Beckers, P. W. M. and Burt, J. P. SCS/ARS/CES Pesticide properties database for environmental decisionmaking. *Rev. Environ. Contam. Toxicol.* 123: 1-157, 1992.5-20.
- Bayer Environmental Science. Safety data sheet of 'ABATE 500E MOUSTIQUES'. Last version : 10.02.2006.
- US-EPA Reregistration Eligibility Decision (RED) Document. [Reregistration Eligibility Decision \(RED\)](#)
- FOCUS (2001). "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.
- Guidance document on risk assessment for birds and mammals under council directive 91/414/EEC. European Commission, SANCO/4145/2000, 24 September 2002
- Hanazato T., Iwakuma and Yasuno M. (1989). Effects of Temephos on Zooplankton Communities in Enclosures in a Shallow Eutrophic Lake. *Environmental Pollution* 59, 305-314. INRA. Agritox Database : <http://www.inra.fr/agritox/>

## DÉCISION DE LA COMMISSION

du 11/IV/2007

**relative à la prolongation de la période de mise sur le marché des produits biocides contenant certaines substances actives n'ayant pas été examinées au cours du programme de travail de dix ans visé à l'article 16, paragraphe 2, de la directive 98/8/CE**

**(Les textes en langue française et polonaise sont les seuls faisant foi.)**

LA COMMISSION DES COMMUNAUTÉS EUROPÉENNES,

vu le traité instituant la Communauté européenne,

vu la directive 98/8/CE du Parlement européen et du Conseil du 16 février 1998 concernant la mise sur le marché des produits biocides<sup>1</sup>, et notamment son article 16, paragraphe 2,

considérant ce qui suit:

- (1) Conformément à l'article 16, paragraphe 2, deuxième alinéa, et à l'article 16, paragraphe 3, de la directive 98/8/CE (ci-après dénommée «la directive»), il peut être décidé de ne pas inscrire une substance active aux annexes I, I A ou I B de la directive lorsque les informations et données requises pour l'évaluation de la substance considérée n'ont pas été présentées au cours de la période prescrite. Lorsqu'une telle décision est prise, il convient que les États membres retirent toutes les autorisations relatives aux produits biocides contenant la substance active en question.
- (2) Les règlements (CE) n° 1896/2000 et (CE) n° 2032/2003 de la Commission établissent les modalités de mise en œuvre des première et deuxième phases du programme de travail de dix ans visé à l'article 16, paragraphe 2, de la directive. L'article 4, paragraphe 2, du règlement (CE) n° 2032/2003 de la Commission fixe au 1er septembre 2006 la date à compter de laquelle les États membres annulent les autorisations relatives aux produits biocides contenant des substances actives existantes ayant été identifiées pour lesquelles aucune notification n'a été acceptée, ni aucun État membre n'a manifesté d'intérêt.
- (3) L'article 4 bis du règlement (CE) n° 2032/2003 de la Commission, modifié par le règlement (CE) n° 1048/2005 de la Commission, établit les conditions dans lesquelles les États membres peuvent demander à la Commission une prolongation de la période de retrait prévue à l'article 4, paragraphe 2, ainsi que les conditions d'octroi de cette prolongation.
- (4) Pour certaines des substances actives dont l'utilisation dans des produits biocides doit être interdite après le 1er septembre 2006, des demandes de prolongation de cette période de retrait ont été présentées par certains États membres à la Commission, ainsi

---

<sup>1</sup> JO L 123 du 24.4.1998, p. 1.

que des informations démontrant la nécessité de poursuivre l'utilisation des substances concernées.

- (5) La Pologne a présenté des informations démontrant l'absence temporaire de substituts adéquats de la cyfluthrine utilisée en tant qu'insecticide aux fins de la protection du bois d'œuvre dans les constructions historiques et les autres constructions. Il est approprié de prolonger brièvement la période de retrait de cette substance afin de permettre la soumission des données relatives à l'efficacité d'autres substances et la mise sur le marché polonais de ces substances conformément à la législation nationale.
- (6) La France a présenté des informations démontrant la nécessité de prévoir la plus large gamme possible de larvicides disponibles pour lutter contre les moustiques vecteurs de maladies graves qui contaminent la population des départements d'outre-mer de cet État membre et demandé le maintien du téméphos sur le marché de ces régions. Il est approprié de prolonger la période de retrait de cette substance afin de permettre son remplacement par d'autres substances appropriées.
- (7) La France a présenté des informations démontrant la nécessité de poursuivre temporairement l'utilisation de l'ammoniac en tant que produit biocide destiné à l'hygiène vétérinaire pour prévenir les infections par les coccidies, le cryptosporidium et les nématodes chez le bétail. Il est approprié de prolonger la période de retrait de cette substance afin de permettre son remplacement progressif par d'autres substances disponibles, notifiées en vue de leur évaluation dans le cadre du programme d'examen de la directive.
- (8) Les mesures prévues par la présente décision sont conformes à l'avis du comité permanent des produits biocides,

A ARRÊTÉ LA PRÉSENTE DÉCISION:

#### *Article premier*

Par dérogation à l'article 4, paragraphe 2, du règlement (CE) n° 2032/2003 de la Commission, les États membres énumérés dans la colonne B de l'annexe de la présente décision peuvent accorder ou maintenir une autorisation de mise sur le marché pour les produits biocides contenant les substances mentionnées dans la colonne A de l'annexe en ce qui concerne les utilisations essentielles décrites dans la colonne D et jusqu'aux dates indiquées dans la colonne C de cette annexe.

#### *Article 2*

1. Les États membres ayant recours à la dérogation prévue à l'article 1er de la présente décision veillent à ce que les conditions suivantes soient remplies:
  - a) la substance ne peut continuer à être utilisée qu'à la condition que les produits en contenant soient autorisés pour l'utilisation essentielle prévue;
  - b) la prolongation de l'utilisation n'est acceptée que dans la mesure où elle n'a aucun effet inacceptable sur la santé humaine ou animale ni sur l'environnement;

- c) toutes les mesures de réduction des risques qui s'imposent sont prises lorsqu'une autorisation est accordée;
  - d) les produits biocides considérés qui restent sur le marché après le 1er septembre 2006 sont réétiquetés de manière à satisfaire aux restrictions d'utilisation;
  - e) le cas échéant, les États membres veillent à ce que des solutions de remplacement soient recherchées par les titulaires des autorisations ou les États membres concernés, ou bien à ce qu'un dossier soit établi en vue de sa soumission conformément à la procédure prévue à l'article 11 de la directive 98/8/CE, d'ici le 14 mai 2008 au plus tard.
2. Le cas échéant, les États membres concernés font rapport tous les ans à la Commission sur l'application du paragraphe 1 et en particulier sur les mesures prises en vertu du point e).

### *Article 3*

La République française et la République de Pologne sont destinataires de la présente décision.

Fait à Bruxelles, le 11/IV/2007.

*Par la Commission*  
*Stavros DIMAS*  
*Membre de la Commission*



ANNEXE

Liste des autorisations visées à l'article 1er

Colonne A	Colonne B	Colonne C	Colonne D
Substance active	État membre	Dates	Utilisation
Cyfluthrine N° CE 269-855-7 N° CAS 68359-37-5	Pologne	1.9.2007	Pour la protection du bois d'œuvre contre les insectes; usage professionnel uniquement.
Téméphos N° CE 222-191-1 N° CAS 3383-96-8	France	14.5.2009	Pour la lutte contre les moustiques vecteurs; uniquement dans les départements français d'outre-mer.
Ammoniac N° CE 231-635-3 N° CAS 7664-41-7	France	14.5.2008	Produit biocide destiné à l'hygiène vétérinaire, permettant de prévenir les infections par les coccidies, les cryptosporidies et les nématodes chez le bétail; à n'utiliser que faute d'autres moyens ayant un effet similaire.

# Décrets, arrêtés, circulaires

## TEXTES GÉNÉRAUX

### MINISTÈRE DE L'ÉCOLOGIE ET DU DÉVELOPPEMENT DURABLE

**Arrêté du 10 mai 2007 concernant la mise sur le marché et l'utilisation de certains produits biocides, contenant des substances actives non notifiées au titre du règlement (CE) 2032/2003 de la Commission du 4 novembre 2003**

NOR : DEVP0754227A

La ministre de l'écologie et du développement durable,

Vu le règlement (CE) n° 2032/2003 de la Commission du 4 novembre 2003 modifié ;

Vu la directive 98/8/CE du Parlement européen et du Conseil du 16 février 1998 concernant la mise sur le marché des produits biocides ;

Vu le code de l'environnement, et notamment son article L. 522-18 ;

Vu le décret n° 2004-187 du 26 février 2004 portant transposition de la directive 98/8/CE du Parlement européen et du Conseil du 16 février 1998 concernant la mise sur le marché des produits biocides, et notamment son article 15,

Arrête :

**Art. 1<sup>er</sup>.** – En application de l'article 15 du décret du 26 février 2004 susvisé :

- la mise sur le marché de produits biocides contenant des substances actives énumérées à l'annexe III ou à l'annexe VII du règlement (CE) 2032/2003 modifié susvisé est interdite ;
- la mise sur le marché de produits biocides contenant des substances actives énumérées à l'annexe II du règlement (CE) 2032/2003 modifié susvisé est interdite pour des types de produits non mentionnés en association avec ces substances actives, à l'annexe II de ce règlement.

**Art. 2.** – L'utilisation des produits visés à l'article 1<sup>er</sup> est interdite à partir du 1<sup>er</sup> septembre 2007.

**Art. 3.** – Par dérogation aux dispositions des articles 1<sup>er</sup> et 2 du présent arrêté :

- la mise sur le marché et l'utilisation dans les départements d'outre-mer, à des fins de lutte antivectorielle, de produits biocides relevant du type de produit « Insecticides, acaricides et produits utilisés pour lutter contre les autres arthropodes », au sens de l'annexe du décret du 26 février 2004 susvisé, et contenant du temephos (CAS n° 3383-96-8), en tant que substance active, sont autorisées jusqu'au 14 mai 2009 ;
- la mise sur le marché et l'utilisation, à des fins d'hygiène vétérinaire dans la prévention d'infestations par des coccidies, cryptosporidies et de nématodes, de produits biocides relevant du type de produit « Produits biocides destinés à l'hygiène vétérinaire », au sens de l'annexe du décret du 26 février 2004 susvisé, et contenant de l'ammoniac (CAS n° 231-635-3), en tant que substance active, sont autorisées jusqu'au 14 mai 2008.

**Art. 4.** – Le directeur de la prévention des pollutions et des risques est chargé de l'exécution du présent arrêté, qui sera publié au *Journal officiel* de la République française.

Fait à Paris, le 10 mai 2007.

Pour la ministre et par délégation :

*Le directeur de la prévention  
des pollutions et des risques,  
délégué aux risques majeurs,*

L. MICHEL

## Synthèse des déclarations d'intérêts par rapport au champ de la saisine

---

### RAPPEL DES RUBRIQUES DE LA DECLARATION PUBLIQUE D'INTERETS

---

<b>IP-A</b>	Interventions ponctuelles : autres
<b>IP-AC</b>	Interventions ponctuelles : activités de conseil
<b>IP-CC</b>	Interventions ponctuelles : conférences, colloques, actions de formation
<b>IP-RE</b>	Interventions ponctuelles : rapports d'expertise
<b>IP-SC</b>	Interventions ponctuelles : travaux scientifiques, essais, etc.
<b>LD</b>	Liens durables ou permanents (Contrat de travail, rémunération régulière ...)
<b>PF</b>	Participation financière dans le capital d'une entreprise
<b>SR</b>	Autres liens sans rémunération ponctuelle (Parents salariés dans des entreprises visées précédemment)
<b>SR-A</b>	Autres liens sans rémunération ponctuelle (Participation à conseils d'administration, scientifiques d'une firme, société ou organisme professionnel)
<b>VB</b>	Activités donnant lieu à un versement au budget d'un organisme

### DECLARATIONS PUBLIQUES D'INTERETS DES MEMBRES DU CES

---

<b>NOM</b>	<b>Prénom</b> <i>Rubrique de la DPI</i> Description de l'intérêt	<b>Date de déclaration</b> <b>intérêts</b>	<b>de des</b>
<b>CALMELS</b>	<b>Régis</b>	01/12/2004 23/10/2005 27/08/2006 16/06/2007	
	Aucun lien déclaré		
<b>CHIRON</b>	<b>Jean-Paul</b>	27/09/2004 03/12/2004 21/11/2005 10/12/2005 08/06/2006	
	Aucun lien déclaré		
<b>COLLOT</b>	<b>Valérie</b>	03/01/2005 01/07/2006	
	Aucun lien déclaré		

---

<b>CREMIEUX</b>	<b>Andrée</b>	27/09/2004 04/12/2004 21/01/2006 16/05/2006 18/06/2006
Aucun lien déclaré		
<b>DELAFORGE</b>	<b>Marcel</b>	01/12/2004 29/06/2006
Aucun lien déclaré		
<b>DEROUBAIX</b>	<b>Gérard</b>	19/06/2003 27/09/2004 11/10/2006
Aucun lien déclaré		
<b>DEVILLERS</b>	<b>James</b>	15/12/2004 06/06/2006
Aucun lien déclaré		
<b>FORSTER</b>	<b>Roy</b>	08/12/2004 07/06/2006
<b>LD</b>		
Directeur scientifique du Centre International de Toxicologie (CIT)		
<b>Analyse Afsset</b> : M. Forster n'a pas déclaré de lien en rapport avec la thématique traitée : pas de risque de conflit d'intérêts par rapport aux saisines.		
<b>GAMELIN</b>	<b>Laurence</b>	02/12/2004 02/06/2006
Aucun lien déclaré		
<b>GOMEZ</b>	<b>Elena</b>	09/09/2004 28/02/2005 10/07/2006
Aucun lien déclaré		

<b>HUBERT François</b>	15/02/2003 02/12/2004 26/06/2006
<b>IP-RE</b>	
Evaluation des risques pour l'homme et l'environnement pour des phytopharmaceutiques pour CERTIS	
<b>IP-AC</b>	
Conseils en toxicologie pour BASF Agro	
<b>Analyse Afsset</b> : Si dans un premier temps il a été demandé à M. Hubert de ne pas participer à l'orientation des travaux, la présidente du CES a jugé que sa participation aux délibérations finales et à l'adoption de l'avis du CES ne présentait pas de risque de conflit d'intérêt.	
<b>JAEG Jean-Philippe</b>	27/09/2004 08/06/2006 13/02/2007
Aucun lien déclaré	
<b>LEMAZURIER Emmanuel</b>	06/12/2004
Aucun lien déclaré	
<b>MARIS Pierre</b>	28/01/2003 24/09/2004 21/11/2005
Aucun lien déclaré	
<b>PARIS Jacques</b>	07/12/2004 10/10/2005 09/06/2006
Aucun lien déclaré	
<b>PERICHAUD Alain</b>	07/09/2004 10/06/2005 19/06/2006
Aucun lien déclaré	
<b>PONTAL Pierre-Gérard</b>	03/12/2004 20/07/2006
<b>LD</b>	
Gérant de CEHTRA	
<b>Analyse Afsset</b> : Le CEHTRA a été mandaté par l'Afsset pour réaliser des rapports d'évaluation des dangers et des risques liés au téméphos et aux substituts larvicides. <b>M. Pontal n'a participé à aucune séance traitant de cette saisine.</b> Il a uniquement été auditionné.	

---

<b>QUINIOU</b>	<b>Françoise</b>	20/09/2004 05/06/2006
	Aucun lien déclaré	
<b>RAMBOURG</b>	<b>Marie-Odile</b>	22/04/2004 11/07/2007
	Aucun lien déclaré	
<b>ROQUES</b>	<b>Christine</b>	05/01/2005 18/05/2006 20/06/2007
	Aucun lien déclaré	
<b>RYFFEL</b>	<b>Bernhard</b>	09/12/2004 08/01/2007
	Aucun lien déclaré	
<b>SANDOUK</b>	<b>Pierre</b>	24/09/2004
	<i>Démission le 9 novembre 2006</i>	
	Aucun lien déclaré	
<b>TRUCHOT</b>	<b>Eric</b>	15/10/2004 25/10/2005
	Aucun lien déclaré	

---



agence française de **sécurité sanitaire**  
**de l'environnement et du travail**

253, avenue du Général Leclerc  
94701 Maisons-Alfort Cedex  
Tél. +33 1 56 29 19 30  
afsset@afsset.fr

[www.afsset.fr](http://www.afsset.fr)

ISBN 978-2-11-095615-6

