



EFBS
CFSB

Eidgenössische Fachkommission für biologische Sicherheit
Commission fédérale d'experts pour la sécurité biologique
Commissione federale per la sicurezza biologica
Swiss Expert Committee for Biosafety

**Stellungnahme der Eidgenössischen Fachkommission
für biologische Sicherheit
zum Inverkehrbringen des
Bacillus thuringiensis israelensis-Präparates
VectoBac G®**

Bern, 31. Juli 2005

1. Ausgangslage

In ihrer Funktion als beratende Kommission im Bereich der Biosicherheit ist es eine der Aufgaben der EFBS, Gesuche zum Inverkehrbringen von pathogenen Organismen zu beurteilen. Das vorliegende Gesuch C050001 - Inverkehrbringen von VectoBac G® (Antragstellerin SCAE – Valent BioSciences GmbH Switzerland, 1260 Nyon) - wurde der Eidgenössischen Fachkommission für biologische Sicherheit EFBS gemäss den Bestimmungen der Freisetzungsverordnung¹ mit Schreiben vom 28. April 2005 vom Bundesamt für Umwelt, Wald und Landschaft BUWAL zur Beurteilung unterbreitet. In ihrer Stellungnahme äussert sich die EBFS insbesondere zu Umweltaspekten und Fragen der biologischen Sicherheit. Die EFBS hat das Gesuch an ihrer Sitzung vom 10. Mai 2005 behandelt. Zur Sitzung eingeladen waren ausserdem die Gesuchstellerin (vertreten durch Denise Munday und Pierre Bauer), die federführende Behörde (vertreten durch Anne-Gabrielle Wust-Saucy) sowie Peter Lüthy, emeritierter Professor der ETH Zürich, der die seit Jahren laufenden versuchsweisen Einsätze von VectoBac G® in der Schweiz durchgeführt und wissenschaftlich begleitet hat.

2. Bewilligungsgesuch

2.1. Zusammensetzung und Wirkungsweise von VectoBac G®

VectoBac G® ist ein granulöses Präparat, das zur Bekämpfung von Stechmücken eingesetzt wird. Als aktiven Wirkstoff enthält es lebende Sporen des Bakteriums *Bacillus thuringiensis israelensis* (Bti). *Bacillus thuringiensis israelensis* enthält Gene, die für verschiedene δ -Endotoxine - auch als Bt-Toxine bekannt - codieren, und zwar für die Cry-Proteine Cry 4Aa, Cry4Ba, Cry10Aa, Cry11 Aa und das Cyt-Protein Cyt1Aa². Solche δ -Endotoxine sind für verschiedene Insekten tödlich: die Proteinkristalle werden im Verdauungstrakt der Insekten aufgelöst und die durch spezifische Proteasen aktivierten Prototoxine binden an Rezeptoren des Darmepitheliums. Dadurch werden Poren in der Zellmembran gebildet, durch die ein unkontrollierter Austausch von Darmsaft und Blutflüssigkeit stattfinden kann, was innerhalb weniger Stunden zum Tod der Insekten führt.

Die verschiedenen Cry-Proteine, die an unterschiedliche Rezeptoren binden, bestimmen die Spezifität eines Stammes. *Bacillus thuringiensis israelensis* wirkt sehr spezifisch gegen verschiedene Nematocera (Mücken), unter anderem gegen die in der Schweiz örtlich stark verbreitete Stechmücke *Aedes vexans*. VectoBac G® wird präventiv zur Bekämpfung von Mücken eingesetzt und wirkt gegen bestimmte Larvalstadien. Als Biopestizid bringt VectoBac viele Vorteile mit sich, unter anderem ein enges, auf Mücken beschränktes Wirtsspektrum, eine schnelle Wirkung und eine sehr niedrige Toxizität gegenüber Nicht-Zielorganismen.

¹ Verordnung vom 25. August 1999 über den Umgang mit Organismen in der Umwelt, SR 814.911

² Federici et al. (1990): Parasporal body of *Bacillus thuringiensis israelensis*: structure, protein composition and toxicity. Rutgers Univ. Press, New Brunswick, N.Y., 16-44

2.2. Ziel des Gesuchs

In der Schweiz wird VectoBac G® im Rahmen eines versuchsweisen Einsatzes seit vielen Jahren erfolgreich in der Magadinoebene und am Greizersee angewendet. Diese Gegenden sind regelmässig von steigenden Wasserpegeln betroffen, die ein explosionsartiges Schlüpfen von Mückenlarven und damit eine Mückenplage zur Folge haben. Um dem Einhalt zu gebieten, wird VectoBac G® gezielt aus der Luft auf die Wasserfläche ausgebracht, wobei teilweise mehrfache Applikationen nötig sind. Ausgebracht werden 12kg/ha bei einer Konzentration von 200 ITU/mg (international toxic units).

Nachdem Bti-Produkte weltweit seit Jahren eingesetzt werden und auch die Schweiz langjährige Erfahrungen mit einer sicheren Anwendung ohne negative Effekte gesammelt hat, soll mit einem formellen Bewilligungsgesuch die versuchsweise Anwendungsphase beendet und der Einsatz von VectoBac G® als Biozid offiziell erlaubt werden.

3. Beurteilung der Umweltaspekte

3.1. Unerwartete Auswirkungen auf Nicht-Zielorganismen

Die verschiedenen Subspezies des Bakteriums *Bacillus thuringiensis* sind in ihrer Gesamtheit in der Lage, ein sehr breites Spektrum von Insekten und auch Nematoden zu bevölkern und abzutöten, die Wirkung eines einzelnen Stammes ist jedoch in sehr hohem Mass spezifisch³. Wie eingangs erwähnt, rührt diese hohe Spezifität von den verschiedenen Bt-Toxinen, den *Cry*-Proteinen her, die von den Bakterien während der Sporulation gebildet werden. Die Bt-Toxine binden sehr spezifisch an Glykolipide. Diese Bindung ist abhängig von Kohlehydrat-Strukturen, die ausschliesslich in Insekten und Nematoden zu finden sind, nicht jedoch in Vertebraten⁴.

Durch die Kombination von einerseits sehr spezifischen Rezeptoren und andererseits einer grossen Anzahl von verschiedenen *Cry*-Proteinen mit modularem Aufbau wird das Wirtsspektrum der einzelnen Subspezies stark eingeschränkt, so dass die Wahrscheinlichkeit von unerwarteten Auswirkungen auf Nichtzielorganismen aus Sicht der EFBS als sehr gering eingestuft werden kann.

Diese Einschätzung wird von verschiedenen Toxizitäts- und Pathogenitäts-Studien an Vögeln, Wasserorganismen (Fische, Invertebraten, Algen etc.), Bienen, weiteren Arthropoden und Regenwürmern bestätigt. Mit *Bacillus thuringiensis israelensis* handelt es sich zudem um ein Bakterium, das auch in der Schweiz natürlicherweise in der Umwelt vorkommt.

3.2. Resistenzbildung

Auch wenn trotz weltweit hohem Einsatz von Bti-Produkten bisher noch keine Resistenzen von Mücken gegenüber VectoBac G® beobachtet worden sind, muss die Möglichkeit zur Bildung von Resistenzen ernst genommen und beobachtet werden.

³ de Maagd et al. (2001): How *Bacillus thuringiensis* has evolved specific toxins to colonize the insect world. Trends Genet. 17, 193-199

⁴ Griffiths et al. (2005): Glycolipids as receptors for *Bacillus thuringiensis* crystal toxins. Science 307, 922-925

Die Entstehung von Resistenzen wird im Vergleich zu einem chemischen Präparat, das aus lediglich einer aktiven Komponente besteht, dadurch erschwert, dass *Bacillus thuringiensis israelensis* verschiedene δ -Endotoxine exprimiert und zudem jedes dieser Toxine aus verschiedenen Untereinheiten besteht, die an spezifische Rezeptoren binden. Ausserdem verfügt Bti mit Cry-Proteinen und Cyt-Proteinen über zwei verschiedene Arten von Endotoxinen, die sich in ihren Bindungseigenschaften grundsätzlich unterscheiden⁵. Weitere Faktoren, die eine Bildung von Resistenzen erschweren, sind eine hohe genetische Variabilität der Mücken und ein zeitlich begrenzter, hoch dosierter Einsatz von Bti, der potentielle, in Bezug auf Resistenzen heterozygote Individuen ebenfalls abtötet, sowie der Umstand, dass Bti sehr UV-labil ist und schnell abgebaut wird⁶.

3.3. Antibiotika-Resistenzgene

Der für die Herstellung von VectoBac G® verwendete Bti-Stamm AM65-52 (ATCC-SD-1276) verfügt natürlicherweise über verschiedene Antibiotika-Resistenzgene und ist resistent gegenüber Penicillin, Ampicillin und Cephalothin. Diese Antibiotika-Resistenzgene befinden sich jedoch nicht auf transmissiblen Elementen, was die Möglichkeit einer Übertragung auf andere Bodenbakterien stark einschränkt.

Auch anderweitig können diese Gene kaum in die Umwelt gelangen, da die Sporen unter natürlichen Bedingungen wie im Boden oder im Wasser kaum keimfähig sind, sondern sich nur unter optimalen Nahrungsbedingungen vermehren⁷.

3.4. Persistenz

In 80% aller Bodenproben kommen natürliche Isolate von *Bacillus thuringiensis* vor. Trotzdem ist eine zusätzliche Anreicherung von durch VectoBac G® ausgebrachten Sporen im Boden oder eine allfällige Vermehrung unerwünscht. Wie oben erwähnt, kann eine Vermehrung unter natürlichen Bedingungen praktisch ausgeschlossen werden. Ausserdem weisen die Sporen eine sehr hohe UV-Empfindlichkeit auf, die auch in oberen Wasserschichten zu einer raschen Inaktivierung der Sporen führt⁸.

Einzig im Boden könnten sich die Sporen an Sedimente anlagern und überdauern. Es hat sich jedoch herausgestellt, dass unmittelbar nach einer Applikation von VectoBac G® die Anzahl Sporen im Boden signifikant zunimmt, ihre Zahl kurz danach aber schnell wieder abnimmt und ein sehr tiefes Niveau erreicht, das demjenigen anderer Bodenmikroorganismen entspricht⁷. Die Abbaubarkeit hängt unter anderem auch vom pH-Wert des Bodens ab. Die durchschnittliche Lebensdauer der Sporen beträgt weniger als zwei Monate.

⁵ Wirth et al. (1997): Cyt A enables CryIV endotoxins of *Bacillus thuringiensis* to overcome high levels of CryIV resistance in the mosquito *Culex quinquefasciatus*. Proc. Natl.acad.Sci. USA, 94, 10536-10540

⁶ E. Flacio (2002): Sulla resistenza di *Aedes vexans* nei confronti di *Bacillus thuringiensis israelensis*, Tesi di laurea. Università degli studi di Milano

⁷ S. Chappuis (2002): Approche moléculaire de l'impact de *Bacillus thuringiensis israelensis* en tant que biopesticide. Thèse. Faculté des sciences de l'Université de Genève.

⁸ P. Lüthy (1997): Beurteilung der Sicherheit von *Bacillus thuringiensis* als mikrobielles Insektizid (Unterlage zur Fachtagung über die ökotoxikologische Bewertung der Toxine von *Bacillus thuringiensis*, 2000)

3.5. Auswirkungen auf die Populationsgrösse der Mücken

Es hat sich gezeigt, dass der Einsatz von VectoBac G® in den beiden betroffenen Gegenden der Schweiz einen nachhaltigen Einfluss auf die Populationsgrösse der Mücken hat. Zwar muss VectoBac G® je nach Wetterbedingungen mehrfach appliziert werden; dennoch konnte die Anzahl Tiere von über 1000 Larven/l auf 50-100 Larven/l gesenkt werden.

4. Schlussfolgerungen der EFBS

Die EFBS kommt zum Schluss, dass unter Einbezug oben aufgeführter Punkte aus Sicht der biologischen Sicherheit nichts gegen das Inverkehrbringen von VectoBac G® spricht. Mit dieser Einschätzung stützt sich die EFBS auch einerseits auf die langjährige Erfahrung mit dem Einsatz im In- und Ausland, bei dem trotz grosser verwendeter Mengen keine negativen Effekte bekannt sind. Andererseits macht sie auch den erwiesenermassen grossen Nutzen des Produkts und die Notwendigkeit der Bekämpfung von Mückenplagen in den betroffenen Gebieten geltend.

Die EFBS hält es für sinnvoll, dass der Einsatz von VectoBac G® weiterhin durch ein Langzeitmonitoring begleitet wird und dass insbesondere einem allfälligen Auftreten von Resistenzbildungen mit grosser Sorgfalt begegnet werden müsste.

Eidgenössische Fachkommission für biologische Sicherheit

Der Präsident



Martin Küenzi

Die Geschäftsleiterin



Karoline Dorsch