

**COMMISSION d'ÉTUDE de la TOXICITÉ des PRODUITS ANTIPARASITAIRES à  
USAGE AGRICOLE  
et des PRODUITS ASSIMILÉS, des MATIÈRES FERTILISANTES et des SUPPORTS  
DE CULTURE  
Groupe de Travail ABEILLES**

## **Compte rendu**

**Séance du 25 mars 2004 présidée par Monsieur Jean Noël TASEI**

---

Présents :

M.	Jean-Noël	TASEI	INRA Lusignan
Mmes	Marie-Pierre	CHAUZAT	AFSSA Sophia
	Monique	GAUTHIER	Université de Toulouse
MM.	Pierrick	AUPINEL	INRA Le Magneraud
	Marc-Edouard	COLIN	Université de Montpellier
	Robert	DELORME	INRA Versailles
	Axel	DECOURTYE	ACTA
	Yves	GOIC	CNDA
	Yves	LE CONTE	INRA Avignon
	Dominique	POUJEAUX	DGAL / SDQPV
	Marc	SUBIRANA	CNDA
	Eric	THYBAUD	INERIS

---

**1°/ Projet de réponse à la lettre de M. Klinger du 9 mars 2004 :**

Le Président rappelle la commande récente qui a été faite en urgence au Groupe Abeilles par le Président de la CET.

En effet, ce dernier a été saisi en date du 9 mars 2004 d'une demande de la part du Directeur Général de l'Alimentation, qui souhaite une réponse sous un mois.

Compte tenu de l'apparition de nouvelles données, le rapport du CST sur l'imidaclopride de septembre 2003 et les études de l'AFSSA (nourissement et EMP), il est demandé dans ce courrier au président de la CET de répondre aux deux questions suivantes, et de réactualiser ainsi son avis de décembre 2002 :

- 1) La mesure de suspension sur tournesol régulièrement accordée depuis 1999 doit elle être maintenue ?
  - 2) Etant entendu que le maïs n'est pas classé dans les plantes mellifères, les données
-

acquises depuis 2002 sont elles de nature à modifier l'avis rendu et si oui dans quelle mesure et sur quelles bases (modèle d'exposition théorique, données de terrain, ...)

A « Rapport Imidaclopride utilisé en enrobage de semences (Gaucho) et troubles des abeilles – Rapport final » juillet 2003

Synthèse des travaux du CST présentée par Eric Thybaud (Voir transparents présentés en Annexe I).

Après avoir rappelé l'origine du rapport du CST sur l'imidaclopride, Eric Thybaud présente les grandes étapes de l'analyse réalisée selon les étapes suivantes :

- a) La validation des données selon des critères précis ;
- b) L'évaluation de l'exposition des abeilles à partir des dosages validés et des scénarios d'exposition développés par le CST afin d'obtenir une concentration d'exposition (PEC) ;
- c) L'évaluation des effets en appliquant des facteurs d'incertitude afin de déterminer des concentrations prévisibles sans effet (PNEC) ;
- d) L'évaluation du risque.

a) Données validées sur maïs :

Pollen de fleurs de maïs : 3,15 ppb (pollen de trappe non représentatif selon CST). Mais des questions perdurent sur la stabilité de la molécule dans le pollen stocké et sur les données relatives aux métabolites.

b) Le calcul de la PEC :

- Peu de données sont disponibles pour développer le scénario de nutrition des larves au pain d'abeilles. Le CST par ailleurs juge cette voie non prépondérante pour le maïs car le pollen ne représente que 10% de l'alimentation d'une larve.
- Le scénario 2 s'intéresse à la consommation de pollen par les nourrices pour développer les glandes hypopharyngiennes. 60 mg sont consommés durant les 10 premiers jours de la vie d'une abeille, soit une quantité d'imidaclopride absorbée de 42 pg à 168 pg sur 10 jours par abeille.
- Le scénario 3 illustre la consommation de pollen par les butineuses lors de la confection des pelotes (l'intoxication topique étant peu probable). On considère qu'un pour cent de la quantité de pollen transportée est absorbé seulement. Une abeille transporte 10 à 30 mg de pollen par voyage, 10 à 15 fois par jour dosé à 3,5 ppb. On obtient donc dans un pire cas de « fidélité florale » un taux de 2,5 à 16 pg d'imidaclopride absorbé par abeille.

c) Le calcul de la PNEC à partir des données de toxicité et des facteurs d'incertitude :

- Toxicité aiguë :

Imidaclopride : Oral de **4** à 71 ng / ab ; topique de **6,7** à 242 ng/ab. Deux études ont été retenues (oral 4 et topique 6,7).

Métabolites (voir présentation en annexe).

- Toxicité chronique :

Deux études ont été validées (voir critères dans le rapport), celle de Suchail qui trouve une DL 50 de 0,1 ppb (12 pg/ab/10 j), et celle de Bures 2000 (été) qui trouve une DL50 de 48

ppb et une NOEC de 16000 pg/ab.

- Toxicité sublétales :

- sur les effets observés sur les abeilles (coordination motrice et effet Knock down),
- en tunnels,
- en plein champ (dances)...

Des NOEC ont été retenues (voir rapport et annexe I). Il convient ensuite de passer aux concentrations sans effet en leur appliquant des facteurs d'incertitude (valeur de sécurité sur la donnée) avant de comparer avec les données d'exposition (PEC).

L'incertitude dépend du nombre d'études disponibles (variations inter et intra laboratoire) et de la nature des données (plus ou moins proche du réel et du plein champ).

Le CST a calculé pour chaque valeur de toxicité obtenue une PNEC par abeille.

Facteurs d'incertitude :

- Tox. aiguë : 100 à la place de 1000 car on dispose de nombreuses données
- Tox. chronique : 10
- Tox. sublétales : labo 1 seul traitement (50) ; labo. Plusieurs traitements (10) ; tunnel (10) ; plein champs (5)

d) Vers une première estimation du risque :

Les scénarios 2 et 3 conduisent à des rapports supérieurs à 1 pour la plupart, parfois proche de 1 dans les cas les plus favorables, ce qui a conduit le CST à parler d'un risque préoccupant pour les nourrices consommant du pollen de maïs en particulier.

Pour le tournesol le risque serait inacceptable selon Eric Thybaud et le CST.

Le Président tient à faire un tour de table pour recueillir les avis de chaque membre du groupe abeilles :

MP Chauzat partage les conclusions du CST et regrette le manque de données.

Y. Goic partage les conclusions du CST et souligne le travail très intéressant de validation (ou non) des études. Il ajoute que l'avis du CST est suffisant en tant que tel et que les suites sont du ressort du gestionnaire du risque. Il insiste sur l'intérêt des informations du réseau de surveillance dans les cas de demandes de retraits d'usages.

Yves Leconte considère le rapport CST convaincant. Il regrette également le manque de données en particulier vis à vis des larves et pose la question de la pertinence des facteurs d'incertitude utilisés.

Eric Thybaud tient à déclarer qu'il faut désormais prendre une décision sur le risque « acceptable ou non » pour le gestionnaire car le risque est selon lui clairement préoccupant pour le maïs. Cette étude fait prendre conscience de la révision nécessaire des documents

guide européens vis à vis des abeilles.

R. Delorme juge la méthode utilisée et l'étude du CST intéressante. Cependant il ne partage pas les conclusions du rapport car les résultats utilisés sont souvent maximalisés et les coefficients de sécurité n'ont pas été choisis avec précision. Il tient à faire remarquer au Groupe abeilles que l'application de la méthode du CST à l'ensemble des insecticides et acaricides, y compris ceux utilisés par les apiculteurs dans les ruches comme le coumaphos et l'amitrazé, conduiraient aux mêmes conclusions qu'avec l'imidaclopride. Le CST ne dispose d'aucun recul historique concernant l'appréciation des résultats de sa méthode et il faudrait avant toute décision faire tourner les mêmes scénarios avec plusieurs insecticides connus afin d'obtenir des valeurs de références.

Il est nécessaire de bien comprendre la signification du rapport PEC/PNEC dans le cas très particulier des insecticides.

Enfin il considère que l'étude de Suchail aurait dû être invalidée, à cause en particulier de l'absence de démonstration d'une relation effet-dose.

JN Taseï ajoute que l'extension de cette méthode aux autres insecticides est une question qui se pose au Groupe abeilles car la méthode est a priori applicable à tous. Il a essayé de faire tourner rapidement la méthode avec des pyréthrinoïdes et il a obtenu un rapport largement supérieur à 100, ce qui pose question.

Eric Thybaud répond qu'il semble en effet très utile de faire tourner les scénarios avec d'autres molécules pour affiner la méthode. Il conteste cependant que les facteurs d'incertitude aient été choisis grossièrement.

Il est impossible selon lui de réviser les critères d'appréciation du rapport PEC/PNEC issue de la réglementation des substances chimiques. Le risque existe dès un rapport supérieur à 1 et il est « préoccupant » selon la terminologie européenne. Il suggère l'établissement de classes de risque d'où découleraient des exigences réglementaires d'évaluation croissantes, lorsque le risque signalé par la classe croît.

Axel Decourtye rend hommage au travail important du CST mais souligne que l'on manque d'historique sur la méthode utilisée. De plus de nombreuses données utilisées sur la biologie de l'abeille notamment sont très anciennes. Il regrette enfin que les autres facteurs susceptibles d'être à l'origine des troubles des abeilles n'aient pas été étudiés par le CST.

Monique Gauthier tient à faire remarquer que la signification du rapport PEC/PNEC est difficile à cerner, en particulier lorsqu'il approche 1. Elle ajoute que des données comparatives devraient être apportées pour bien apprécier ces résultats par rapport aux autres insecticides utilisés.

Pierrick Aupinel, s'il juge les résultats du CST intéressants, note un manque « d'échelle », qui pourrait permettre de mesurer l'intensité du risque. Cette échelle des effets des produits, reste à établir avec les spécialités connues. Cela permettrait ensuite de mettre en parallèle les effets et l'acceptation du risque.

M. Subirana est confiant dans les conclusions du rapport du CST. Il juge lui aussi que des références identiques doivent être déterminées pour les autres produits avec la méthode du CST. Cependant si l'exposition des abeilles à d'autres toxiques est réelle, cela n'infirme pas selon lui l'hypothèse la plus probable de la responsabilité de l'imidaclopride dans les troubles

apicoles.

ME Colin atteste de la réalité des dépopulations car il a observé sur le terrain en 1998 la concomitance entre miellée de tournesol et dépopulation. Il partage donc complètement les conclusions du CST.

JN Taseï est solidaire du travail du CST. Il ajoute néanmoins que le manque d'échelle ne facilite pas l'interprétation et l'appréciation.

B Expérience de nourrissage de l'AFSSA Sophia : « Etude expérimentale de la toxicité de l'imidaclopride distribué dans le sirop de nourrisseurs à des colonies d'abeilles (*Apis mellifera*) » - J-P. Faucon *et al.* Version du 24 février 2004

JN Taseï présente les grands points de l'étude (confer annexe II)

La question de l'exposition est cruciale dans cette expérience. Il est en effet impossible d'estimer la quantité réelle d'imidaclopride absorbée par chaque colonie. L'exposition est probablement partielle selon les auteurs du rapport.

L'entrée expérimentale d'imidaclopride est environ 5 fois inférieure à l'entrée réelle sur tournesol, selon JN Taseï, avec une production modérée de 30 kg de miel/colonie. Le seul effet significatif est la réduction du couvain au printemps sur les lots traités à 5 microg/kg..

ME Colin juge la durée d'observation du comportement (1 mn par jour) insuffisante, ce qui suffirait à invalider l'essai.

Y. Goïc demande à ce que le CST se prononce sur la validité de l'étude comme il l'a fait pour d'autres.

A.Decourtye regrette que des outils modernes n'aient pas été utilisés à l'appui de cette expérimentation (compteurs, balances...).

Le groupe abeilles considère donc que cette expérimentation a été menée avec des méthodes grossières affectant la précision de données importantes (évolution du couvain, activité et taille des colonies) rendant difficile l'interprétation statistique. Par ailleurs l'entrée expérimentale d'imidaclopride est peu représentative de celle qui a lieu en conditions de champ. En dépit de ces déficiences un effet négatif sur couvain de printemps est révélé après traitement à 5 microg/kg..

C Premiers résultats de l'Etude Multifactorielle Prospective : « Enquête prospective multifactorielle des troubles des abeilles » - Rapport intermédiaire J-P. Faucon *et al.* - Décembre 2003

JN Taseï présente les grands points de l'étude (confer annexe III)

Les premiers résultats font état de la présence de résidus d'imidaclopride à plusieurs époques de l'année mais aussi parfois d'autres molécules endosulfan, fluvalinate voire coumaphos. Ce dernier constat a été corrélé à l'utilisation de ce produit en traitement apicole.

L'état des colonies est généralement reconnu comme satisfaisant malgré la présence fréquente de loques, nosémose, virus CBPV et DWV, sans signe clinique.

Des résidus d'imidaclopride ont été retrouvés dans le miel de réserve hivernal mais pas de fipronil.

Les corrélations ne sont pas encore établies. Les résultats sont encore partiels, et les explications possibles ne sont identifiées.

R. Delorme considère que cette étude remet en cause les conclusions du CST car elle démontre l'exposition des abeilles à de nombreuses molécules qu'elle que soit la saison.

Y. Goïc voit apparaître dans ces premiers résultats des questions très intéressantes. L'utilisation du coumaphos est une mauvaise pratique apicole à proscrire pour tous. Le réseau de surveillance et d'alerte peut apporter les mêmes informations. Cet exemple montre que les apiculteurs ne peuvent plus se cacher derrière le discours de l'abeille intoxiquée qui ne rentre pas à la ruche et qui meurt.

### **D Conclusion et rédaction de l'avis du Groupe abeilles :**

(présentation générale en Annexe IV)

En ce qui concerne le tournesol, après examen de l'ensemble de ces documents, le groupe Abeilles souscrit aux conclusions du CST à savoir la mise en évidence d'un risque important pour les butineuses de nectar, les butineuses et les nourrices suite à la consommation de pollen et les abeilles d'intérieur suite à la consommation de miel. Ces évaluations sont basées sur des mesures de concentration d'imidaclopride dans le pollen et le nectar de tournesol et sur des scénarios d'exposition développés par le CST.

L'étude expérimentale de la toxicité de l'imidaclopride distribué dans le sirop de nourrisseurs à des colonies d'abeilles, réalisées par l'AFSSA n'a pas été jugée de nature à remettre en cause cette conclusion du fait de la faible exposition des abeilles et donc de sa faible représentativité par rapport à l'exposition des colonies d'abeilles lors d'une miellée de tournesol.

En ce qui concerne le maïs, le groupe Abeilles confirme que bien que le maïs ne soit pas une plante mellifère, il n'en demeure pas moins que les abeilles peuvent être exposées par l'intermédiaire du pollen. Ainsi, en France de 30 à 40% des ruches sont au contact de pollen de maïs. Par ailleurs, la proportion de pollen de maïs dans le mélange de pollen entrant dans les ruches au moment de la floraison de celui-ci peut être de 60 à 80%.

Dans le cas du maïs, le groupe Abeilles confirme l'existence d'un risque globalement moins élevé que pour le tournesol. Celui-ci concerne les nourrices. Comme dans le cas du tournesol, l'évaluation est basée sur des données de concentration en imidaclopride dans le pollen et sur des scénarios d'exposition développés par le CST.

Le groupe Abeilles rappelle que quelle que soit la plante considérée (tournesol ou maïs) il n'est pas possible, compte tenu de l'absence de donnée de toxicité, d'évaluer le risque pour les larves.

Enfin, les premiers résultats de l'enquête multifactorielle des troubles des abeilles réalisée par l'AFSSA confirme la présence d'imidaclopride dans les pollens de trappe de printemps et d'automne et dans les réserves hivernales à des concentrations comprises entre la limite de détection (0,2 µg/kg) et la limite de quantification (1 µg/kg). Cette étude confirme donc l'exposition des abeilles à l'imidaclopride en conditions de terrains.

Dans l'état actuel du dépouillement des résultats, il est à noter une absence d'observation de phénomène de dépopulation des ruches.

## **2°/ Examen du complément de dossier du Supreme (acétamipride utilisée à 100 g/ha) :**

(Présentation du dossier et avis du rapporteur Monique Gauthier en Annexe V)

Le présent dossier examiné a été constitué pour répondre à une demande initiale de le CET, formulée lors de la réunion du Groupe Abeilles du 15 mars 2001. Il était demandé en particulier à la firme de fournir les DL 50 sur abeilles et bourdons de la spécialité, une étude sur le couvain, et une étude sur les résidus dans le pollen.

Cette spécialité est utilisée par voie aérienne. Elle est reconnue comme systémique.

Le groupe abeilles considère que les données apportées confortent le dossier initial. Aucun effet sur la mortalité n'a été relevé dans les conditions expérimentales décrites.

Le groupe propose donc d'accorder la mention abeilles sur les usages « en floraison » pour une utilisation à une dose inférieure ou égale à 100 g/ha d'acétamipride.

La firme devra toutefois transmettre dans un délai de 6 mois (si les prélèvements sont actuellement disponibles) les résultats demandés vis à vis des analyses polliniques.

## **3°/ Point sur le travail des sous groupes du Groupe abeilles sur les révisions des méthodes :**

Le sous groupe « létal » de Jean-Claude Malet n'a pas commencé ses travaux.

Le sous groupe de Monique Gauthier s'est réuni lui une première fois le 2 février.

La composition de ce groupe pose question car deux apiculteurs représentants de l'UNAF se sont invités à la première réunion sans invitation.

Monique Gauthier les a conviés également à la réunion du 26/04/04 mais pose la question au groupe de la pertinence de leur participation.

Le groupe lui répond qu'il est absolument nécessaire qu'au moins une personne de la Commission des Essais Biologiques participe à ce sous groupe, qui est en fait un sous groupe de travail de la CEB.

En effet l'objectif est de faire reconnaître dans un premier temps ces nouvelles méthodes au niveau national. La CEB est reconnue officiellement comme la structure de référence issue de l'Association Française de Protection des Plantes qui a compétence dans le domaine de la validation des méthodes d'expérimentation utilisées en France pour les produits antiparasitaires.

L'AFPP est constitué de 3 collèges, un collège de représentants de l'industrie de la protection des plantes, un collège de représentants des Instituts concernés et un collège de spécialistes de l'administration et de la recherche.

Les agriculteurs ne sont pas représentés et la participation des apiculteurs à ce sous groupe de travail n'est pas anodine. Le groupe considère toutefois qu'elle pourra être tolérée dans la mesure où l'apport de ces deux personnes sera exclusivement technique, sans représentation syndicale.

## **4°/ Points divers :**

a) Le chantier « réseau » :

---

Yves Goïc informe le groupe que ce réseau fonctionne plutôt bien. La collaboration avec les SRPV et Jean-Claude Malet a été fructueuse et il préfère qu'un point complet soit réalisé lors de la prochaine réunion du groupe abeilles en présence de ce dernier. L'ensemble des résultats et des questions de ce réseau pourra alors être discuté avec le groupe.

Il regrette toutefois le manque d'analyses réalisées par les SRPV, pour cause de crédits insuffisants.

b) Le chantier « Connaissance des fleurs visitées par les abeilles » :

Peu de résultats suite à l'enquête du CNDA, sont parvenus à Marc Subirana. Celui ci a donc complété ses informations par des données bibliographiques. Cette recherche ne sera achevée qu'après l'hiver 2004/2005.

L'AFSSA de Sophia dispose de données intéressantes en provenance de l'EMP (70 espèces florales listées actuellement).

c) L'Arrêté Mention abeilles :

Le secrétaire informe le groupe que la publication de cet arrêté, initialement daté du 28 novembre 2003, a été annoncée par le Cabinet du Ministre pour la semaine prochaine.

e) Communication sur les travaux du Groupe abeilles : Yves Goïc rappelle son ancienne demande qu'au minimum un extrait des comptes rendus du groupe abeilles soit diffusé vers le plus grand nombre, par l'intermédiaire d'un site Web par exemple.



## Liste de Diffusion

- Daniel Marzin (Président de la CET)
- Annie Rivière (secrétariat CET)
- Les membres du Groupe Abeilles
- Les membres de la CET (en séance et/ou par voie électronique)
  
- Hervé Durand
- Gaëlle Féron

## ANNEXES

## Diapositive 1

**CST de l'étude multifactorielle des troubles des abeilles**

Imidaclopride utilisé en enrobage de semences (Gaucho®) et troubles des abeilles :

rapport final

**Pr. Daniel MARZIN** *Président de la Commission d'étude de la toxicité des produits antiparasitaires à usage agricole*  
Ministère de l'agriculture, de l'alimentation, de la pêche et des affaires rurales

**Pr. Sylvain RAULT** *Président de la Commission d'évaluation de l'écotoxicité des substances chimiques*  
Ministère de l'écologie et du développement durable

05/01/2004 Programme communautaire 2002/2003 1

Bonjour, je vais vous présenter les principaux résultats du rapport imidaclopride utilisé en enrobage de semences et troubles des abeilles réalisé par le CST remis à la DGAL en juillet dernier. Ce comité a été mis en place par le Ministère de l'agriculture sous la présidence conjointe des professeurs Marzin et Rault qui siègent respectivement à la Commission des toxiques et à la Commission d'écotoxicité des substances chimiques.

## Diapositive 2

**Composition du CST**

• **Membres**

? <b>D. Marzin</b>	Institut Pasteur Lille	? <b>M. Le Bêchec</b>	FNOSAD
? <b>S. Rault</b>	C.E.R.M.N. Univ. Caen	? <b>D. Poujeaux</b>	DGAL
? <b>G. Arnold</b>	CNRS Gif sur Yvette	? <b>M. Sanaa</b>	ENVA
? <b>M. Aubert</b>	AFSSA	? <b>J.N. Tasei</b>	INRA
? <b>J.M. Barbançon</b>	FNOSAD	? <b>E. Thybaud</b>	INERIS
? <b>B. Declercq</b>	DGCCRF	? <b>F. Touffet</b>	C.E.R.M.N. Univ. Caen
? <b>P. Deschamps</b>	Cabinet Paracelse	? <b>P. Vasseur</b>	C.S.E. Univ. Metz
? <b>J.P. Faucon</b>	AFSSA		

• **Post-doc**

? <b>C. Doucet-Personeni</b> (fév.-sept/2002)	→ C.E.R.M.N. Univ. Caen responsabilité scientifique de F. Touffet
? <b>M. P. Halm</b> (depuis oct/2002)	
? <b>A. Rortais</b> (fév. 2002/fev. 2003)	→ CNRS Gif sur Yvette responsabilité scientifique de G. Arnold

05/01/2004 Programme communautaire 2002/2003 2

Le CST est composé d'experts d'origines diverses. Un support technique est apporté au groupe sous la forme de post-doc : dont je fais partie  
Ce rapport a été rédigé à l'origine par les membres surlignés en bleu sur cette diapo et révisé par l'ensemble des membres du CST

### Diapositive 3

**Étude bibliographique**

- **Documents à la base de l'analyse**
  - ▶ 245 rapports fournis par la DGAL traitant des troubles des abeilles dont 107 spécifique à l'imidaclopride
  - ▶ 93 documents issus de la littérature scientifique et technique

**Objectifs**

- ▶ réaliser une évaluation des risques présentés par l'imidaclopride utilisé dans l'enrobage de semence pour les abeilles

05/01/2004 Programme communautaire 2002/2003 3

Le rapport final concernant l'imidaclopride fait le bilan des 245 rapports, fourni par la DGAL et des 93 documents issus de la littérature scientifique. Le rapport est basé sur une évaluation des risques encourus par les abeilles lors de l'utilisation d'imidaclopride en enrobage de semences.,

### Diapositive 4

**Procédure**

- **Se baser sur des données validées**
  - ▶ Étude de validation effectuée pour
    - **dosages d'imidaclopride**
      - ↳ Pollen de maïs
    - **données de toxicité**
      - ↳ Aiguë
      - ↳ Chronique
      - ↳ Sublétale (études de laboratoires, tunnels et plein champs)
  - ▶ Évaluation de la fiabilité des données en fonction
    - ↳ du protocole opératoire
    - ↳ de la description des méthodes et des résultats

05/01/2004 Programme communautaire 2002/2003 4

Afin de déterminer les PECs et les PNECs nécessaires à l'évaluation de risques, nous avons expertisé des données de dosages de l'imidaclopride dans les pollens, nectar, sols et végétaux ainsi que des données de toxicité aiguë, chronique et subletale.. L'expertise était basée sur le protocole opératoire et la description des méthodes et des résultats

## Diapositive 5

**Procédure**

- **Évaluer l'exposition des abeilles => PEC**
  - ▶ à partir des données de dosages validées
  - ▶ à partir de scénario d'exposition spécifique à chaque catégorie
    - Larves
    - Nourrices
    - Butineuses
    - Abeilles d'intérieur : période hivernale
- **Évaluer les effets => PNEC**
  - ▶ à partir des données de toxicité validées
  - ▶ facteurs d'incertitudes adaptés des méthodes utilisées dans le cadre des réglementations (cas par cas)
    - Substances chimiques nouvelles et existantes (Directive 67/548 et règlement 793/93)
    - Produits phytosanitaires (Directive 91/414) : notion de dose à l'hectare non applicable dans le cas d'un systémique

05/01/2004 Programme communautaire 2002/2003 5

En ce qui concerne la détermination des PECS, nous avons calculées les quantités d'imidaclopride ingérées par les abeilles en fonction des données de dosages validées et de scénario d'exposition spécifiques à chaque catégories d'abeilles (larves, nourrices, butineuses, abeilles d'intérieurs).

La détermination de la PNEC prend en compte les données de toxicité validées auxquelles on a combiné des facteurs d'incertitudes déterminés au cas par cas

Ce travail est à la fois fondamental et appliqué, la méthode utilisée sert de référence au groupe abeille et sera prochainement publiée.

## Diapositive 6

**1 Détermination de la PEC**

- ➔ Validation des données disponibles de dosages
- ➔ conception des scénarios d'exposition

05/01/2004 Programme communautaire 2002/2003 6

Nous nous sommes attachés dans un premier temps à déterminer la PEC

Diapositive 7

**Validation de données - Exposition**

- Critères de validations
  - ▶ N°1 : nombre d'échantillons suffisant provenant de sites distincts.
  - ▶ N°2 : un historique complet et sans ambiguïtés des échantillons et des méthodes d'échantillonnages selon le substrat étudié
  - ▶ N°3 : LQ = 1 ppb et LD < 0,5 ppb
  - ▶ N°4 : une méthode de dosage spécifique de l'imidaclopride et de ses métabolites (pas de dosages de résidus totaux)
  - ▶ N°5 : un poids d'échantillon conforme au poids requis par la validation de la méthode

05/01/2004
Programme communautaire 2002/2003
7

Pour les données d'expositions, 5 critères de validation ont été établis par les membres du CST. Toute étude ne répondant pas à ces critères n'a pas été retenue. Ces critères étaient: nombre d'échantillons suffisants, un historique d'échantillonnage complet, une limite de quantification de 1 ppb pour la méthode de dosage, une méthode de dosage spécifique et un poids d'échantillon conforme à la méthode de dosage.

Diapositive 8

**Validation de données - Exposition**  
**Dosages dans le pollen de tournesol et maïs**

- Etudes invalidées : 8

- Résultats validés\* : 2

Plantes	Références	Motif d'invalidation
T (+M)	M29, Bonmatin, 1998	2, 3
T	M10, Schmuck et al, 1999	1, 3
T	M11, Schmuck et al, 1999	1, 3
T	M31, Lagarde, 2000	4
T	M111, Laurent et Scalla, 2001	1, 3, 6
M	M34, Bonmatin, 2001	1, 2
M	M147, Schmuck et al, 1999	2, 3
M	M148, Schmuck et al, 1999	2, 3

Plantes	Références	Teneurs moyennes validées (ppb)
Mt	M210, Bonmatin, 2002	<b>m = 0,75</b> médiane = 0,215 90 <sup>ème</sup> percentile = 1,36 10 <sup>ème</sup> percentile = 0,215
Mf	M210, Bonmatin, 2002	<b>m = 3,5</b> médiane = 1,2 90 <sup>ème</sup> percentile = 8,55 10 <sup>ème</sup> percentile = 0,5

05/01/2004
Programme communautaire 2002/2003
8

Parmi les études disponibles concernant les dosages dans le pollen de tournesol et de maïs, seules 4 études ont été validées. Dans le tournesol, les teneurs moyenne en imidaclopride sont de 2,2 pour le pollen de trappe et de 3,35 ppb pour le pollen de fleur. Pour le pollen de maïs, on retiendra les valeurs de 0,75 pour le pollen de trappe et de 3,5 pour le pollen de fleur

## Diapositive 9

### Validation de données - Exposition

- **Conclusion : résultats validés utilisés dans l'évaluation de risques**
  - ▶ Dosages d'imidaclopride dans
    - Les pollens de fleurs de maïs : 3,5 ppb
    - Les pollens de trappe sur zone maïs : 0,75 ppb

Non représentatifs des quantités d'imidaclopride rentrant dans la colonie

- **Commentaires**
  - ▶ Dosages dans le pollen, nectar et miel dans la ruche afin d'évaluer la stabilité chimique de l'imidaclopride au cours du stockage dans la ruche
  - ▶ Dosages des métabolites (oléfine)

05/01/2004 Programme communautaire 2002/2003 9

En conclusion, Nous avons donc retenues, pour l'évaluation de risques, les teneurs en imidaclopride suivante : 3.3 ppb pour les pollen de tournesol, 3.5 pour le pollen de maïs, 1.9 pour le nectar de tournesol. Nous n'avons pas pris en compte les dosages effectués dans les pollens de trappe car jugé non représentatifs des quantités d'imidaclopride rentrant dans la colonie. Néanmoins, il est nécessaire d'obtenir des données concernant la stabilité chimique de l'imidaclopride dans les pollens, nectar et miel au cours du stockage dans la ruche. Il en est de même pour les dosages des métabolites de l'imidaclopride pour lesquels aucune donnée de dosages n'a été validée.

## Diapositive 10

### EXPOSITION : calcul de la PEC

3 scénarios envisagés

- ▶ Cas du pollen contaminé par l'imidaclopride ramené puis stocké dans la ruche

- **Scénario 1**
  - ↳ Nutrition des larves : consommation de pain d'abeille : La part due au pollen a été considérée comme négligeable
- **Scénario 2**
  - ↳ consommation de pollen par les nourrices pour développer leurs glandes hypopharyngiennes
- **Scénario 3**
  - ↳ consommation de pollen par les butineuses lors de la confection de pelotes (intoxication topique peu probable)

05/01/2004 Programme communautaire 2002/2003 10

5 scénarios sont envisagés en considérant les d'abeilles qui consomment soit du pollen soit du nectar. Nous avons également pris en compte les différentes populations d'abeille de la ruche : les larves, les nourrices, les butineuses de pollen et de nectar, les abeilles d'intérieur. Ces scénarios sont basés sur les connaissances actuelles de la vie de l'abeille issues de la littérature scientifique et de l'expérience des apiculteurs. Ces scénarios sont actuellement proposés au niveau européen.

Diapositive 11

### EXPOSITION : calcul de la PEC

Scénario 2

Cas des nourrices (1-10 jours) qui consomment le pollen de maïs contaminé stocké dans la ruche

► Considérant

- une abeille adulte consomme environ 60 mg de pollen pendant les 10 premiers jours de sa vie
- Régime correspondant à un mélange de pollen contaminé et non contaminé
- dosages validés d'imidaclopride dans le pollen de maïs : 3,5 ppb

► Estimation de la quantité d'imidaclopride absorbée par une nourrice pendant 10 jours

Concentration d'imidaclopride contenu dans le pollen de panicules de maïs = 3,5 (µg/kg ou ppb)	
Pourcentage de pollen de tournesol contaminé par l'imidaclopride	Quantité d'imidaclopride absorbée par les abeilles au bout de 10 jours de consommation (pg)
80%	168
80%	126
60%	84
40%	42

05/01/2004
Programme communautaire 2002/2003
11

Selon le même raisonnement que précédemment, si l'on considère une nourrice qui consomme du pollen de maïs, la quantité d'imidaclopride ingérée pendant 10 jours varie de 42 à 168 pg

Diapositive 12

### EXPOSITION : calcul de la PEC

Scénario 3

Cas des butineuses de pollen qui consomment le pollen lors de la confection de pelotes

► Considérant

- 1% la quantité de pollen absorbée lors de la confection de pelotes
- Une abeille récolte entre 10 et 30 mg de pollen sous forme de pelotes par voyage, 10 à 15 voyages/jours
- Dosages validés d'imidaclopride dans le pollen de maïs : 3,5 ppb

► Estimation de la quantité d'imidaclopride absorbée par une butineuse lors de la confection de pelotes

Cas du pollen de maïs

- Ingestion de 1 à 4,5 mg de pollen contaminé à 100% (fidélité florale)
- Quantité théorique d'imidaclopride ingérée = 3,5 à 16 pg

Intoxication topique peu probable

05/01/2004
Programme communautaire 2002/2003
12



Le cas d'une intoxication des butineuses de pollen par ingestion d'imidaclopride lors de la confection de pelotes a également été envisagé. Nous avons estimé à 1% la quantité de pollen potentiellement absorbée. Sachant qu'une abeille récolte environ 10 à 30 mg de pollen/voyage et qu'elle fait environ 10 à 15 voyages/jours, la quantité d'imidaclopride ingérée a été estimée entre 3.3 et 15 pg en cas de confection de pelotes de pollen de tournesol et entre 3.5 et 16 pg pour du pollen de maïs. \*

Le cas d'une intoxication par voie topique n'a pas été développé, la biodisponibilité de l'imidaclopride dans le grain de pollen et sa diffusion à travers la cuticule de l'abeille nous a semblé peu probable.

### Diapositive 13

**2 Détermination de la PNEC**

- ➔ Validation des données disponibles de toxicité
- ➔ Facteurs d'incertitudes

05/01/2004 Programme communautaire 2002/2003 13

Dans un deuxième temps, nous avons déterminés les PNECS. Nous disposons de nombreuses données de toxicité aiguë, chronique et subletale

### Diapositive 14

**Validation de données – Toxicité**  
**Données de toxicité aiguë**

- **Critères de validations**
  - ▶ Lignes directrices de l'OCDE 213 (intoxication orale) et 214 (intoxication topique)
- **Données validées**
  - ▶ **Imidaclopride**
    - intoxication orale : DL50 de 4 à 71 ng ma/abeille
    - Imidaclopride intoxication topique : DL50 de 6,7 à 242 ng ma/abeille
  - ▶ **Métabolites (intoxication orale)**
    - Oléfine : DL50 de 28 à > 35,7 ng ma/abeille
    - Hydroxyimidaclopride : DL50 de 153 à 258 ng ma/abeille
    - Autres : DL50 >1000ng ma/abeille

05/01/2004 Programme communautaire 2002/2003 14

En ce qui concerne la validation des données de toxicité aiguë, les études ont toutes été réalisées selon les lignes directrices de l'OCDE, elles sont donc toutes validées. En

intoxication orale, la DL50 est de 4ng d'imidaclopride/ab. En intoxication topique, la DL50 la plus basse est de 6.7 ng sa/ab.

Pour les métabolites de l'imidaclopride, oléfine et l'hydroxyimidaclopride montre une toxicité légèrement inférieure à l'imidaclopride

Diapositive 15

**Validation de données – Toxicité**  
**Données de toxicité chronique**

- Critères de validations : pas de lignes directrices
- Critères de validations
  - ▶ N°1: Maintenance des abeilles : obscurité, enceinte climatisée à 25°C ±2°C, 50 à 70% humidité relative
  - ▶ N°2 : Age, race d'abeille, date d'expérimentation et méthode de collecte connus
  - ▶ N°3: 10 abeilles/cages minimum, 3 cages minimum/doses testées, test répété 3 fois, 1 groupe témoin et 3 concentrations différentes testées. Durée du test : 10 jours
  - ▶ N°4 : Enregistrement de la mortalité toutes les 24 ou 48 h. Mortalité des témoins <15% au bout de 10 jours

05/01/2004
Programme communautaire 2002/2003
15

Aucune lignes directrices n'existant pour les données de toxicité chronique sur abeilles,. Nous avons donc établis nos propres critères de validation à savoir :

Diapositive 16

**Validation de données – Toxicité**  
**Données de toxicité chronique :**

Imidaclopride : administration réitérée par voie orale

- Etudes invalidées : 2

- Etudes validées : 2

Références	Motifs d'invalidations (non respect du critère N°)	Références	Résultats
M13, M32, M162, M165 : Decourtye et al, 1998 ; Inra de Bures	Résultats non fiables d'après les auteurs, problème de concentrations des solutions	M47 : Suchail, 2001 ; Inra d'Avignon	DL50 = 0,1 ppb (12pg/ab pendant 10jours)
M33 : « études d'hiver », Decourtye et al, 2000 ; Inra de Bures	1	M33 : « études d'été » Decourtye et al, 2000 ; Inra de Bures	NOEC = 48 ppb, LOEC = 96 ppb (NOEC= 16000 pg/ab ; LOEC = 32000pg/ab)

05/01/2004
Programme communautaire 2002/2003
16

En l'absence de protocole standardisé chaque laboratoire a élaboré le sien. Les études sont donc difficilement comparable et les différents résultats ne s'excluent pas forcément. Ils peuvent être le reflet de différence de protocole et de sensibilité des abeilles.

Parmi les études disponibles, nous avons validés 2 résultats : une DL50 correspondant à une ingestion de 12 pg d'imidaclopride sur 10 jours et une NOEC à 16000 pg/ab (10 jours aussi)

Diapositive 17

## Validation de données – Toxicité

### Données de toxicité chronique :

Métabolites : administration réitérée par voie orale

- Etudes invalidées :

- Etudes validées :

Métabolites testés	Références	Motif d'invalidation
Hydroxy-imidaclopride Oléfine	M33, M259, M191 ; Etudes d'hiver, Decourtye et al, 2000 ; Inra de Bures	1
Dérivé urée Acide 6 chloronicotinique	M221, M226 ; Thompson, 2000 M222, M230 : « Foraging bees, Kling 2000 M223, M227 : "Field bees", Barth, 2000 M225, M229 : "Foraging bees et field bees" Wilhelmy, 2000	4

Métabolites testés	Références	Résultats
Hydroxy-imidaclopride Oléfine Di hydroxyimidaclopride Dérivé Guanidine Acide 6 chloronicotinique Dérivée urée	M47, Suchail, 2001 ; Inra d' Avignon	DL50 = 0,1 ppb (12pg/ab pendant 10jours)
Dérivé urée Acide 6 chloronicotinique	M224, M231 : « Hive bees, Kling 2000 M223, M227 : "House bees", Barth, 2000 M228: Worker Bees; Bruhnke 2000	NOEC > 10 ppb (2740pg/ab pendant 10 jours)

05/01/2004
Programme communautaire 2002/2003
17

Pour les métabolites de l'imidaclopride, nous avons retenu la valeurs de 12 pg/ab pour la DL50 et pour tous les métabolites et une NOEC de 2740 pg

Diapositive 18

### Validation de données – Toxicité

#### Effets sublétaux : Etudes de laboratoires

- Critères de validations : pas de lignes directrices
  - ▶ N°1: Protection de l'imidaclopride de la lumière
  - ▶ N°2 : Indication de la quantité d'imidaclopride administrée
  - ▶ N°3: Bon état physiologiques des abeilles
  - ▶ N°4 : 30 abeilles minimum en 3 lots. Durée du test 10 jours
  - ▶ N°5 : Mortalité témoins < 15% au bout de 10 jours
  - ▶ N°6 : jeune préalable entre 2 et 4 h

05/01/2004 Programme communautaire 2002/2003 18

Des études se sont également intéressées aux effets sublétaux engendrés par des administrations d'imidaclopride. Ces études se déroulent soit en laboratoire, soit sous tunnels ou en plein champs. De même que pour les études de tox chroniques, il n'existe pas de lignes directrices. Nous avons donc établis nos propres critères de validations : Pour les essais en laboratoire 6 critères ont été retenus

Diapositive 19

### Validation de données – Toxicité

#### Effets sublétaux : Etudes de laboratoires

#### Synthèse des principaux résultats validés

Résultats validés des effets sublétaux	Molécules testées (NOEC et LOEC exprimées en ng/abeille)					
	Imidaclopride	Oléfine	2-Hydroxy-imidaclopride	5-Hydroxy-imidaclopride	Acide 6- chloro nicotinique	Dérivé urée
Coordination motrice et effet knockdown	NOEC <sup>1</sup> =0,94 LOEC <sup>3</sup> =5			NOEC <sup>1</sup> =1,2	LOEC <sup>2</sup> =0,002	LOEC <sup>2</sup> =0,004
Réflexe d'extension du proboscis	NOEC <sup>1</sup> =1,25 NOEC <sup>2</sup> =0,2 LOEC <sup>3</sup> =0,1	NOEC <sup>1</sup> =2,5	NOEC <sup>1</sup> =2,5			
Perception olfactive	LOEC <sup>3</sup> =10					
Consommation de pollen	LOEC <sup>2</sup> =0,31					
Production de cire	LOEC <sup>2</sup> =0,31					
Reconnaissance entre apparentés	LOEC <sup>2</sup> =0,25					

1 intoxication aiguë par voie orale; 2 intoxication chronique (10 à 12 jours) par voie orale ; 3 intoxication par voie topique

05/01/2004 Programme communautaire 2002/2003 19

En laboratoire, lorsque l'imidaclopride est administré en 1 seule fois par voie orale, la

concentration sans effets est de 0,94 ng sa/ab en ce qui concerne la coordination motrice. Lorsque l'administration est réitérée sur une période de 12 jours, la concentration sans effets retenue est de 0,2 ng/d'imidaclopride/ab sur le réflexe d'extension du proboscis

Diapositive 20

**Validation de données – Toxicité**  
**Effets sublétaux : Etudes sous tunnels**

- **Critères de validations : pas de lignes directrices**
  - ▶ N°1 : Protection de l'imidaclopride de la lumière
  - ▶ N°2 : Dimensions correctes des cages de vols
  - ▶ N°3 : Bon état physiologique des abeilles, homogénéité des ruches et développement suffisant du couvain
  - ▶ N°4 : 4000 abeilles minimum lorsque l'étude porte sur une activité de la colonie
  - ▶ N°5 : durée significative de l'observation

05/01/2004
Programme communautaire 2002/2003
20

Pour les études sous tunnels, 5 critères de validations ont été retenus

Diapositive 21

**Validation de données – Toxicité**  
**Effets sublétaux : Etudes sous tunnels**

Synthèse des principaux résultats validés

Résultats validés des effets sublétaux	Molécules testées (NOEC et LOEC exprimées en ng/abeille)		
	Imidaclopride	Oléfine	Hydroxy-imidaclopride
Dances tremblantes	LOEC=2,5		
Temps de recherche de la ruche	LOEC=2,5		
Contacts trophallactiques	LOEC=2,5		
Fréquentation du nourrisseur	LOEC=0,075	LOEC=0,02	NOEC=0,075
Durée de la prise alimentaire	LOEC=0,075	LOEC=0,02	LOEC=0,075
Quantité de sirop prélevé	LOEC=0,63		

05/01/2004
Programme communautaire 2002/2003
21

Pour les études sous tunnels, lorsque l'imidaclopride est présenté dissous dans du sirop sur un nourrisseur, la concentration la plus basse entraînant un effet sur le comportement de l'abeille (ici la fréquentation du nourrisseur ou la durée de la prise alimentaire) est de 0,075 ng d'imidaclopride/ab pour 5 jours d'expérience

Diapositive 22

**Validation de données – Toxicité**  
**Effets sublétaux :Etudes en plein champ**

- Critères de validations : pas de lignes directrices
  - ▶ N°1: Superficie des champs importante, séparation suffisante des champs traités et témoins, protection de l'imidaclopride lorsque nourrisseur
  - ▶ N°2 : 4000 abeilles minimum en bon état physiologique, placées dans le champs quelques jours avant l'expérience
  - ▶ N°3: 3 colonies /traitement au minimum
  - ▶ N°4 : durée significative de l'observation
  - ▶ N°5 :champs traités et témoins dans les mêmes conditions nectarifères

05/01/2004 Programme communautaire 2002/2003 22

Pour les études en plein champs, 5 critères de validations ont également été définis

Diapositive 23

**Validation de données – Toxicité**  
**Effets sublétaux :Etudes en plein champ**

**Synthèse des principaux résultats validés**

Résultats validés des effets sublétaux	Molécules testées (NOEC et LOEC exprimées en ng/abeille)	
	Imidaclopride	Oléfine
Effets observés		
Danses tremblantes	NOEC=0,25	NOEC=0,25
Danses frétilantes	NOEC=0,25	NOEC=2,5
Précision de la distance	NOEC=0,5	NOEC=2,5
Précision de l'angle	NOEC=0,25	NOEC=2,5
Retour au nourrisseur	NOEC=2,5	
Fréquentation du nourrisseur	NOEC=0,5	NOEC=2,5
Coordination motrice	NOEC=2,5	

05/01/2004 Programme communautaire 2002/2003 23

La concentration validées n'entraînant pas d'effet subletaux est de 0,25 ng d'imidaclopride/ab

Diapositive 24

**EFFETS : calcul de la PNEC**

- Approche "phytosanitaires" (Dir 91/414)
  - ▶ but : protéger une entité taxonomique
  - ▶ Non applicable dans le cas d'un systémique
  
- Approche "substances chimiques" (Dir 67/548)
  - ▶ but : protéger l'ensemble des espèces d'un écosystème
  - ▶ PNEC obtenue
    - en divisant la plus basse des CL<sub>50</sub> ou NOEC
    - par un facteur d'incertitude prenant en compte les incertitudes suivantes
      - ⌘ variation intra- et inter-laboratoire
      - ⌘ extrapolation des données de toxicité court-terme au long terme
      - ⌘ extrapolation du laboratoire au plein champ

05/01/2004
Programme communautaire 2002/2003
24

Selon les directives, deux types d'approches ont été envisagées pour la détermination des pniec : l'approche phytosanitaire et l'approche substance chimiques nouvelles et existante. L'approche phytosanitaire qui a pour but de protéger une entité taxonomique (comme dans notre cas) est basée sur un quotient de risque se rapportant à la dose d'emploi au champs et la DL50. Elle était donc difficilement applicable dans le cas d'un insecticide systémique L'approche retenue est donc celle des substances chimiques nouvelles et existantes.

Diapositive 25

**EFFETS : calcul des PNEC**

Imidaclopride : Intoxication par voie orale

		Variable observée	Facteur d'incertitude	PNEC (pg/ab)
<b>Toxicité aiguë</b>				
DL50 48h = 4 ng/ab		Mortalité	100	40
<b>Toxicité chronique par voie orale</b>				
Abeilles adultes: DL50 10j = 0,012 ng/ab		Mortalité	10	1,2
<b>Toxicité subléthale</b>				
Laboratoire	1 seul traitement par voie orale NOEC = 0,94 ng/ab	Modifications comportementales	50	20
	traitement réitéré par voie orale NOEC = 0,2 ng/ab	Modifications comportementales	10	20
Sous tunnel	Sur nourrisseur LOEC = 0,075 ng/ab	Modifications comportementales	10	7,5
Plein champ	Sur nourrisseur NOEC = 0,25 ng/ab	Modifications comportementales	5	50

05/01/2004
Programme communautaire 2002/2003
25

Pour chaque type de données de toxicité, nous avons donc calculé la PNEC en se basant sur la plus basse des valeurs de toxicité validée et en lui associant un facteur d'incertitude déterminé au cas par cas. Ces PNECs varient de 1,2 dans le cas d'une intoxication chronique par voie orale à 50 dans le cas d'une intoxication subléthale en plein champs

Diapositive 26

**4. La détermination du rapport PEC/PNEC**

➔ Vers une première estimation du risque

05/01/2004 Programme communautaire 2002/2003 26

Afin de déterminer si l'utilisation d'imidaclopride en enrobage de semences présente un risque pour les abeilles, nous avons effectué le rapport PEC/PNEC. Dans le cas d'un rapport supérieur à 1, le calcul des PEC ne peut être affiné car nous avons utilisé toutes les données scientifiques que nous avons à ce jour recensé. Seule la PNEC peut donc être affiné. Nous avons considéré comme stade ultime d'affinage la PNEC correspondant le plus aux conditions environnementales, cad les essais en plein champs pour les butineuses. Néanmoins, dans le cas des abeilles qui ne sortent pas de la ruche (nourrice, abeilles d'intérieur durant l'hivers), les conditions de plein champs ne sont pas les plus représentatives. Pour ces abeilles, nous avons considéré les tests de toxicité sublétaux en labo comme les plus représentatifs. Selon cette procédure, les résultats du rapport PEC/PNEC apparaissent sur la diapo suivante

Diapositive 27

**Calcul des risques correspondant au scénario d'exposition n°2 pour le pollen de maïs (intoxication pendant 10 jours)**

Scénario 2 : consommation de pollen par les nourrices					
<i>Cas du pollen de maïs</i>					
Rapport PEC/PNEC	PEC Concentrations d'exposition en fonction de la quantité d'imidaclopride contenue dans le pollen contaminé (pg)				
PNEC (pg)	(20 % pollen de panicules) 42	(40 % pollen de panicules) 84	(60 % pollen de panicules) 126	(80 % pollen de panicules) 168	(80 % pollen de panicules) 181
A partir des données de toxicité aiguë par voie orale					
40	1	2,1	3,1	4,2	4,5
A partir des données de toxicité chronique par voie orale					
1,2	35	70	105	140	151
A partir des données de toxicité sublétales de laboratoire par voie orale					
intox. aiguë 20	2,1	4,2	6,3	8,4	9
intox. chronique 20	2,1	4,2	6,3	8,4	9

05/01/2004 Programme communautaire 2002/2003 27



Diapositive 28

**Calcul des risques correspondant au scénario d'exposition n°3 pour le pollen de maïs (intoxication pendant 1 journée de butinage)**

Scénario 3 : les butineuses de pollen		
<i>Cas du pollen de maïs</i>		
Rapport PEC/PNEC	PEC Concentrations d'exposition en fonction de la quantité d'imidaclopride contenue dans le pollen contaminé (µg)	
PNEC (µg)	10 mg de pollen ingéré	45 mg de pollen ingéré
	3,5	16
A partir des données de toxicité aiguë par voie orale		
40	0,09	0,4
A partir des données de toxicité chronique par voie orale		
1,2	2,9	13
A partir des données de toxicité sublétales de laboratoire par voie orale		
1 traitement 20	0,17	0,79
Traitement réitéré 20	0,17	0,79
A partir des données de toxicité sublétales sous tunnel par voie orale		
7,5	0,63	2,1
A partir des données de toxicité sublétales plein champ par voie orale		
50	0,07	0,32

05/01/2004
Programme communautaire 2002/2003
28

Diapositive 29

**Rapport Exposition / Effets  
PEC/ PNEC**

Rapport PEC/PNEC selon le pourcentage de contamination des produits consommés		
Scénario	A partir d'une exposition à du Maïs traité Gaucho	Commentaires relatifs aux scénarios
Scénario 1 : consommation de « bouillie larvaire » par les larves	Rapport PEC/PNEC non déterminé par absence de données de toxicité	<b>Absence de données :</b> - de toxicité - de dosages de résidus dans la gelée royale et la « bouillie larvaire » - sur la stabilité de l'imidaclopride au cours du stockage dans la ruche
Scénario 2 : consommation de pollen par les nourrices	2,1 à 9 (151*)	<b>Absence de données :</b> - sur la stabilité de l'imidaclopride au cours du stockage du pollen dans la ruche - de dosages de résidus dans le pain d'abeilles
Scénario 3 : consommation de pollen par les butineuses	0,07 à 0,32 (13*)	<b>Scénario reposant sur une estimation</b> de la proportion de pollen ingéré lors de la confection de pelotes

05/01/2004
Programme communautaire 2002/2003
29

Nous n'avons pas pu estimer le risque que représente l'imidaclopride pour la population de larve car nous n'avons aucune donnée de toxicité disponibles pour cette catégorie

La consommation de pollen de tournesol et de maïs contaminé présente un risque pour les nourrices. La consommation de nectar de tournesol enrobé Gaucho présente un risque pour les butineuses de nectar. Il en est de même pour la consommation de miel de tournesol. Ces résultats nous ont conduit à fournir à la DGAL la conclusion suivante :

## Conclusion

- En ce qui concerne l'enrobage Gaucho® de semences de maïs, le rapport PEC/PNEC s'avère, comme pour le tournesol, préoccupant dans le cadre de la consommation de pollen par les nourrices, ce qui pourrait entraîner une mortalité accrue de celles-ci et être un des éléments de l'explication de l'affaiblissement des populations d'abeilles encore observé malgré l'interdiction du Gaucho® sur tournesol.

**EXPERIENCE NOURRISSEMENT AFS**

**Objectif**

Simuler par une opération de nourrissage au sirop l'exposition à l'imidaclopride de colonies lors de la récolte de nectar de tournesol

**EXPERIENCE NOURRISSEMENT AFSSA**

**Principes de l'expérience**

4 groupes de 8 ruches + 1 = 33 ruches 10 cadres → 4 traitements

↓

**Gno** = pas de sirop  
**Go** = sirop 50/50 (masse saccharose / volume eau)  
**G 0,5** = sirop à 0,5 µg / kg imidaclopride  
**G 5** = sirop à 5 µg / kg imidaclopride

4 ruches hors protocole      collecte pollens (contamination)

Sirop = 1 litre par semaine → durant 1 mois (12 juillet-11 août)

Traitements anti nosema et anti varroa, identiques

Diapositive 3

EXPERIENCE NOURRISSEMENT AFSSA

**Principes de l'expérience**

**Analyses de résidus**

**Acteurs = AFSSA, GIRPA, AFSSA Maison-Alfort**

1/ Contaminations d'origine non expérimentale = 35 molécules (pollen, cire)

2/ Contamination par imidaclopride expérimental =

- + imidaclopride
- + acide 6 chloronicotinique
- cire
- abeilles mortes
- miel de hausse
- sirop de G5

Diapositive 4

EXPERIENCE NOURRISSEMENT AFSSA

**Principes de l'expérience**

**Paramètres**

Activité = entrantes / min. 14 h. (12 juillet – 18 décembre)  
Apport de pollen = nombre de jours avec apport (12 juillet – 18 décembre)  
Essaimage  
Mortalité = nombre d'abeilles mortes devant ruches (13 juillet -1 sept.)  
Poids des colonies (12 juillet – 16 février)  
Miel de hausse (récolte 17 août) +1 échantill. par groupe de ruches  
Surface couvain operculé en dm<sup>2</sup> (6 visites = 11 juillet – 25 octobre)  
Couvain operculé + non operculé en nbre de cadres (21 mars)  
Force des colonies adultes + couvain (note de 0 – 5) (21 mars)  
Maladies et parasites (échantillonnages 11 et 21 juillet + 25 octobre)

Diapositive 5

EXPERIENCE NOURRISEMENT AFSSA

**Résultats**

**Analyses chimiques**

Cire gaufrée	fluvalinate...	100 - 2000 µg / kg
	soufre.....	700 - 1000 µg / kg
Pelotes pollen chlorés		< 1 - 10 µg / kg (L.D.)
	organo-phosph	< 10 - 300 µg / kg ----
	pyrethrinoides	< 5 µg / kg ----
	fongicide	< 50-100 µg / kg ----
Miel de hausse (G5)	imidaclopride	= 2,95 µg / kg (L.Q. = 0,25 µg / kg)
	(G0,5)	< 0,08 µg / kg
	(G0)	< 0,08 µg / kg
Abeilles mortes (G0)		< 0,08 µg / kg
	(G0,5)	> 0,08 < 0,25 µg / kg
Sirop	(G0)	< 0,08 µg / kg
Sirop( G5)		= 4,65 µg / kg

Diapositive 6

EXPERIENCE NOURRISEMENT AFSSA

**Résultats**

**Comportement et Développement des colonies**

Effet significatif des traitements sur :

- Indice d'activité pendant nourrissage (abeilles entrantes / min.)  
G5 et G0,5 > G0
- Transport de pollen pendant nourrissage (nb. jours avec entrées de pollen)  
G5 > G0,5 > G0 (18 16 14,3 jours)
- Couvain operculé et non operculé le 21 mars (nb. cadres)  
G5 < G0 (4,6 7)  
G0,5 > G0 (8 7)

**EXPERIENCE NOURRISSEMENT AFSSA**

**Discussion sur l'exposition**

Entrée expérimentale d'imidaclopride (G5)  
= 65 µg

Indicateur de dilution par nectar extérieur ....3 µg / kg imida dans miel  
hausse G5

Lacunes = données sur le miel des corps de ruche (présence imida ??)  
= données sur réserves miel le 21 mars (présence imida ??)  
= données sur résidus imida ( par ruche ?? )

Citation auteurs = « sirop...stocké par les abeilles mais probablement également en partie consommé par celles-ci »

Pas de possibilité d'estimer la consommation réelle d'imida par chaque colonie

↓

**EXPERIENCE NOURRISSEMENT AFSSA**

**Discussion sur l'exposition**

**Entrée d'imidaclopride lors de la visite de tournesol**

Hypothèses = 30 kg de miel récolté en 1 mois de floraison  
Nectar à 40 % sucres et à 2 µg / kg d'imida

↓

**Entrée = 150 kg nectar = 300 µg / kg imida**  
( 45 kg conso + 30 kg stockés)

**Pollen à 3 µg / kg**

↓

**Entrée 10 kg = 30 µg imida**

## EXPERIENCE NOURRISSEMENT AFSSA

### Discussion sur l'exposition

L'exposition expérimentale est environ 5 fois inférieure à l'exposition prévisible sur tournesol en production modérée de 30 kg de miel / ruche  
65 µg contre 330 µg d'imidaclopride

Dans l'expérience AFSSA

- l'exposition « butineuses » est minimisée (nourrisseur interne)
- les « nourrices » ne sont pas exposées au pollen contaminé

Diapositive 10

## EXPERIENCE NOURRISSEMENT AFSSA

### Conclusion

L'entrée expérimentale d'imidaclopride dans les colonies est 5 fois inférieure à celle qui proviendrait d'une culture de tournesol donnant 30 kg de miel / ruche.

Le sirop expérimental à la concentration de 5 µg / kg a été dilué par l'apport du nectar extérieur.

La consommation du sirop expérimental ne peut être évaluée rigoureusement faute de données adéquates. Elle est jugée par les auteurs « probablement partielle ». On ne peut pas établir avec précision de relation entre effet et exposition.

Le seul effet négatif rapporté dans le traitement au sirop à 5 µg / kg d'imidaclopride est une réduction significative du **couvain de printemps** par rapport au témoin.

Durant la phase de nourrissage la **période de récolte de pollen** est significativement allongée dans les colonies traitées par rapport au témoin. Les colonies traitées ont aussi un « **indice d'activité** » supérieur.

Diapositive 1

**Enquête Multifactorielle Prospective  
des troubles de l'Abeille**

**Objectifs**

**Etude de 2- 3 ans à faire sur 25 ruchers  
où les divers facteurs de perturbations  
sont pris en compte afin d'expliquer les  
éventuels troubles observés sur les  
colonies**

Diapositive 2

**Enquête Multifactorielle Prospective  
des troubles de l'Abeille**

**Contrôle de validité par le CST**

**5 départements en France métropolitaine**

**5 ruchers par département**

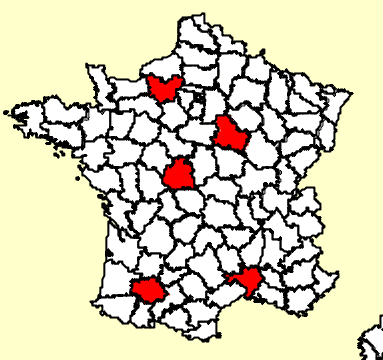
**5 ruches par rucher (+2 pour pollen)**



Diapositive 3

**Enquête Multifactorielle Prospective  
des troubles de l'Abeille**

- L'Eure
- L'Yonne
- L'Indre
- Le Gard
- Le Gers



Diapositive 4

**Enquête Multifactorielle Prospective  
des troubles de l'Abeille**

**4 visites par an**

<b>Visite D</b>	<b>Automne</b>	<b>Septembre- Octobre</b>
<b>Visite A</b>	<b>Printemps</b>	<b>Mars-Avril</b>
<b>Visite B</b>	<b>Début été</b>	<b>Mai-Juin</b>
<b>Visite C</b>	<b>Fin d'été</b>	<b>Juillet-Août</b>

Diapositive 5

Enquête Multifactorielle Prospective  
des troubles de l'Abeille

**Prélèvements d'échantillons**

Abeilles d'intérieur.....A, B, C, D  
 Pollen.....A, B, C, D  
 Miel nouveau.....B, C  
 Réserves hiver.....D  
 Cire.....D

Diapositive 6

Enquête Multifactorielle Prospective  
des troubles de l'Abeille

**Analyse de résidus**

	Cire	Miel	Pollen	Abeille
<b>GIRPA</b>	Multirésidus	Multirésidus Carbamates Fongicides Imidaclopride Fipronil	Carbamates Fongicides Imidaclopride Fipronil	Carbamate Fongicides
<b>AFSSA</b>			Multirésidus	Multirésidus

Dire combien il y a **d'insecticides** recherchés dans l'analyse multirésidus:  
17

Les carbamates sont des **herbicides**  
Nombre recherchés: 10

Nombre de fongicides: 12

L'imida et le Fipro sont recherchés par des analyses spécifiques.  
Les validations ont été longues à obtenir

Diapositive 7

**Enquête Multifactorielle Prospective  
des troubles de l'Abeille**

- **Caractérisation des zones (cultures, surfaces des parcelles, traitements phytosanitaires, flore adventice)**
- **Cartographie des données en utilisant le SIG**
- **Comparaisons statistiques des zones**

Diapositive 8

**Enquête Multifactorielle Prospective  
des troubles de l'Abeille**

**Apiculteurs concernés par EMP**

↓

<b>40% professionnels</b>	<b>43 kg /ruche</b>
<b>40 % pluriactifs</b>	<b>27 kg /ruche</b>
<b>20 % petits apiculteurs</b>	<b>20 kg /ruche</b>

**Gratuité du traitement AMM anti varroa mais liberté de choix.....40% n'ont pas utilisé cette opportunité.**

**Professionnels:** vivant exclusivement de la récolte de miel, de pollen et/ou de gelée royale

**Pluri-actifs:** une autre activité, y compris la transformation des produits de la ruche

**petits apiculteurs:** possédant moins de 51 ruches

Diapositive 9

Enquête Multifactorielle Prospective des troubles de l'Abeille				
Anomalies et symptômes en % de ruchers				
	D 2002	A 2003	B 2003	C 2003
Mycoses	32	76	64	56
Cannibalisme	23	12	40	48
Couvain tubulaire	18	44	48	72
Mortalité devant ruches	0	0	0	12
Ailes atrophiées	45	20	0	20
Varroas phorétiques	45	16	4	24
Loque américaine	18	12	12	0
Loque européenne	4,5	0	16	8

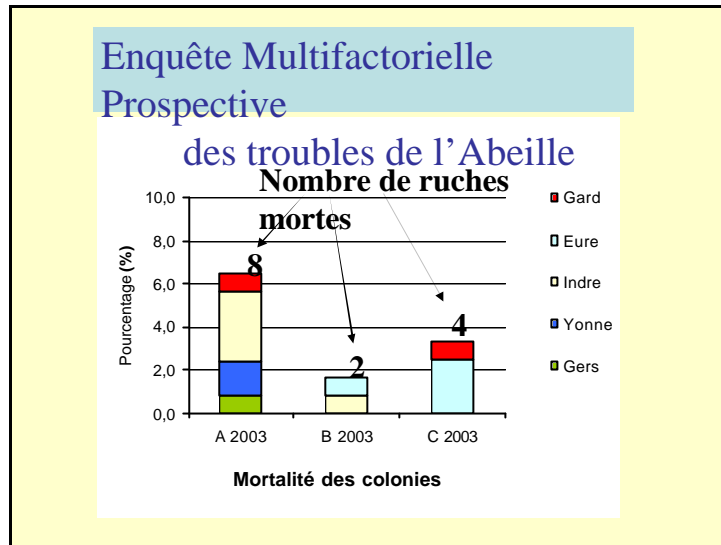
Données traitées par rucher

Diapositive 10

Enquête Multifactorielle Prospective des troubles de l'Abeille				
Mortalités des ruches selon la période				
Mortalités des colonies (N = 125)	D	A	B	C
	-	6,4%	1,6%	3,3%

Données traitées par ruchers

Diapositive 11



Diapositive 12

**Enquête Multifactorielle Prospective**  
des troubles de l'Abeille

**Recherche de parasites**

	D 2002	A 2003	B 2003
<b>Nosema</b>	9%	36%	64%
<b>Acarapis</b>	0%	0%	4%

Diapositive 13

**Enquête Multifactorielle Prospective  
des troubles de l'Abeille**

**Recherche de virus**

**CBPV**

- détection : 36 % des ruchers en D et A
- symptômes : 4% en A.

**DWV**

- détection : 95 % des ruchers en D

Diapositive 14

**Enquête Multifactorielle Prospective  
des troubles de l'Abeille**

**Recherche des résidus dans le pollen**

	Insecticide	Quantités en µg/kg
D 2002 (3)		< LD (3)
A 2003 (23)		22
Pollens majoritaires = Arbres fruitiers	a-endosulfan (2)	340
	Coumaphos (2)	1700
	(Lutte anti varroa)	150
	Fluvalinate (2)	2020
		300
	Parathion-méthyl (4)	< LQ
Parathion-éthyl (1)	< LQ	

Diapositive 15

Enquête Multifactorielle Prospective des troubles de l'Abeille	
Recherche des résidus dans le pollen	
Imidaclopride ou Acide 6 chloronicotinique	Quantité (µg / kg)
D (8)	(5).....<LQ, >LD (1)..... 2,84
A (15)	(15).....<LQ, >LD

Diapositive 16

Enquête Multifactorielle Prospective des troubles de l'Abeille	
Recherche des résidus dans le pollen	
Fipronil et 2 métabolites	Quantités (µg / kg)
D (9)	(2).....< LQ, >LD
A (24)	(10).....<LQ, >LD (1).....3,26

Diapositive 17

Enquête Multifactorielle Prospective  
des troubles de l'Abeille

**Départements à pollens les plus  
contaminés**

**Yonne** = imidaclopride + ac.6-  
chloronicotinique + fipronil+  
parathion-méthyl. **Pas de pertes  
hiver.**

**Indre** = imidaclopride + MB 46136  
(métabolite du fipronil) + coumaphos.  
**Pas de pertes hiver.**

Miel : négatif en fipro

Diapositive 18

Enquête Multifactorielle Prospective  
des troubles de l'Abeille

**Recherche des résidus dans le miel**

Visite D (25)

fipronil et métabolites (25) < LD (0,3 µg/kg)

Imidaclopride et Ac. 6 chl. (9) <LQ >LD



Diapositive 19

## Enquête Multifactorielle Prospective des troubles de l'Abeille

### Discussion

L'état des colonies est satisfaisant et les mortalités d'hiver faibles.  
Les pratiques apicoles ne sont pas satisfaisantes (maladies, lutte anti varroa)  
Il y a une fréquence élevée de Nosema et de virus DWV .  
Les pollens d'automne et printemps sont en majorité contaminés  
par imidaclopride et fipronil à des concentrations < LQ (1 µg / kg et 2 µg / kg).  
D'autres contaminants sont aussi présents (5), dont 3 à des concentrations >  
LQ. L'origine des contaminations n'est pas connue et une investigation sur la  
flore est nécessaire. Il y a attente de résultats des caractérisations de  
l'environnement (déficiency du SRPV).  
Les réserves hivernales sont souvent contaminées par imidaclopride à  
concentrations < LQ.

Diapositive 20

## Enquête Multifactorielle Prospective des troubles de l'Abeille

### Discussion

Il y a attente de résultats des caractérisations de l'environnement (déficiency du SRPV).  
Il manque les résidus des visites B et C (Mai à Aout), soit ceux de la période tournesol et maïs.  
Il n'est donc pas possible actuellement de calculer les corrélations entre les différents facteurs de l'environnement des ruchers.  
Les départements choisis présentent ils les situations extrêmes d'exposition aux pollens des grandes cultures incriminées ?  
Le rapport présente des résultats bruts et très partiels que l'on ne peut pas analyser avec profit. Il convient d'attendre qu'une année d'enquête soit révolue en fournissant toutes les données requises.

## **REPONSE A LA SAISINE DU GROUPE ABEILLES POUR LA COMMISSION D'ETUDE DE LA TOXICITE CONCERNANT LE GAUCHO EN ENROBAGE TOURNESOL ET MAÏS**

Suite à la saisine par le président de la commission d'étude de la toxicité, le groupe Abeilles a examiné 3 documents concernant la problématique « Risque pour les abeilles » lié à l'usage de l'imidaclopride en enrobage de semence tournesol et maïs.

Ces documents correspondent :

- Au rapport du comité scientifique et technique de l'étude multifactorielle des troubles des abeilles « Imidaclopride utilisé en enrobage de semences (Gaucho) et troubles des abeilles – Rapport final » juillet 2003
- Au rapport de l'AFSSA « Etude expérimentale de la toxicité de l'imidaclopride distribué dans le sirop de nourrisseurs à des colonies d'abeilles (*Apis mellifera*) » - J-P. Faucon *et al.* Version du 24 février 2004
- Au rapport AFSSA « Enquête prospective multifactorielle des troubles des abeilles » - Rapport intermédiaire J-P. Faucon *et al.* – Décembre 2003

En ce qui concerne le tournesol, après examen de l'ensemble de ces documents, le groupe Abeilles souscrit aux conclusions du CST à savoir la mise en évidence d'un risque important pour les butineuses de nectar, les butineuses et les nourrices suite à la consommation de pollen et les abeilles d'intérieur suite à la consommation de miel. Ces évaluations sont basées sur des mesures de concentration d'imidaclopride dans le pollen et le nectar de tournesol et sur des scénarios d'exposition développés par le CST.

L'étude expérimentale de la toxicité de l'imidaclopride distribué dans le sirop de nourrisseurs à des colonies d'abeilles, réalisées par l'AFSSA n'a pas été jugée de nature à remettre en cause cette conclusion du fait de la faible exposition des abeilles et donc de sa faible représentativité par rapport à l'exposition des colonies d'abeilles lors d'une miellée de tournesol.

En ce qui concerne le maïs, le groupe Abeilles confirme que bien que le maïs ne soit pas une plante mellifère, il n'en demeure pas moins que les abeilles peuvent être exposées par l'intermédiaire du pollen. Ainsi, en France de 30 à 40% des ruches sont au contact de pollen de maïs. Par

ailleurs, la proportion de pollen de maïs dans le mélange de pollen entrant dans les ruches au moment de la floraison de celui-ci peut être de 60 à 80%.

Dans le cas du maïs, le groupe Abeilles confirme l'existence d'un risque globalement moins élevé que pour le tournesol. Celui-ci concerne les nourrices. Comme dans le cas du tournesol, l'évaluation est basée sur des données de concentration en imidaclopride dans le pollen et sur des scénarios d'exposition développés par le CST.

Le groupe Abeilles rappelle que quelle que soit la plante considérée (tournesol ou maïs) il n'est pas possible, compte tenu de l'absence de donnée de toxicité, d'évaluer le risque pour les larves.

Enfin, les premiers résultats de l'enquête multifactorielle des troubles des abeilles réalisée par l'AFSSA confirme la présence d'imidaclopride dans les pollens de trappe de printemps et d'automne et dans les réserves hivernales à des concentrations comprises entre la limite de détection (0,2 µg/kg) et la limite de quantification (1 µg/kg). Cette étude confirme donc l'exposition des abeilles à l'imidaclopride en conditions de terrains.

Dans l'état actuel du dépouillement des résultats, il est à noter une absence d'observation de phénomène de dépopulation des ruches.

**Dossier complémentaire d'appui à la demande de Mention Abeille de SUPREME  
(Exp 60707)  
Rapport établi par M. Gauthier**

La spécialité SUPREME contient 203 g / kg d'acétamipride, néonicotinoïde agissant sur le récepteur nicotinique chez l'insecte.

Le dossier a été examiné par le groupe Abeille en mars et en avril 2001 pour utilisation sur les vergers, les cultures maraîchères, ornementales et sur le tabac. La commission a donné un avis favorable pour l'attribution de la mention Abeille en période de floraison, sous réserve de préciser la DL 50 de la préparation sur l'abeille et sur d'autres pollinisateurs (bourdons), de présenter une étude sur le couvain et de préciser les quantités de résidus présentes dans les pollens des cultures traitées.

### **I Toxicité aiguë**

#### 1) Abeilles

Évaluée en orale et en topique sur des cagettes de 10 abeilles, par rapport à un témoin non traité et à un traitement au diméthoate. Plusieurs doses de SUPREME sont testées. Pour chaque dose et chaque traitement, 5 replicats sont effectués

*Toxicité orale:* Les abeilles reçoivent de façon collective 20 ? l de solution sucrée contaminée par la préparation. Cinq doses ont été utilisées (de 1,5 à 28,35 ? g s.a./ ab) et 5 replicats sont effectués pour chaque dose. Les concentrations nominales ont été majorées de 25% pour pallier la baisse de consommation observée généralement. (Diméthoate: de 0,05 à 0,11 ? g s. a. /ab).

Rm: la dose la plus faible utilisée est supérieure à la dose susceptible d'être absorbée 10 ab par cage reçoivent 20 ? l de solution soit 2 ? l / ab (théoriquement car non contrôlée). La préparation contient 203 g s.a./kg, l'utilisation recommandée est 100 g s. a. dans 400 l d'eau ce qui correspond à 0,25 g / l soit 0,25 ? g / ? l. soit 0,50 ? g / ab.

*Toxicité par contact:*

Application individuelle de 2 ? l de la solution contaminée avec des doses allant de 0,62 à 70 ? g s.a./ab. Dans ce cas, la quantité reçue par chaque abeille est connue précisément.

<b>DL 50 orale 24 h: 9,26 ? g/ab</b>	<b>48 h: 8,85</b>	<b>QHo = 21,53</b>
<b>DL50 contact 24 h: 9,29 ? g/ab</b>	<b>48 h: 6,44</b>	<b>QHc = 21,60</b>

Ces valeurs sont voisines de celles obtenues avec la s. a. et les quotients de risque sont inférieurs à 50.

#### 2) Bourdons

Les tests de toxicité orale ou par contact comportent un traitement témoin, un traitement au diméthoate (5 ? g / b) et un traitement SUPREME.

*Toxicité orale (test dose - réponse)*

10 ml de solution sont offerts collectivement à chaque groupe de 20 bourdons. Cinq doses

sont testées (3 à 48 ? g/b). Au final, les observations de mortalité portent sur des groupes de 2 à 11 bourdons (ceux qui ont ingéré la solution), en fonction des doses testées. Les solutions les plus concentrées sont peu absorbées. Donc, les échantillons sont non homogènes. Conséquence sur le calcul de mortalité corrigée?

#### *Toxicité par contact (test limite)*

Une seule dose de SUPREME est délivrée sur le thorax (100 ? g dans 2 ? l), compte tenu d'une fourchette de doses préalablement définie dans des expériences préliminaires (non détaillées).

**DL50 orale 24 h/48h: 22,32 ? g/b**  
**DL50 contact 24h/48h: >100 ? g/b**

**QHo = 8,96**  
**QHc < 2**

La toxicité aiguë est plus faible sur les bourdons que sur les abeilles. Pour les 2 espèces étudiées, la valeur contact est plus fiable que la valeur orale, car dans ce dernier cas, soit la quantité réellement ingérée n'est pas connue (abeilles) soit le nombre d'observations est très réduit (bourdons).

En conclusion, la toxicité aiguë par contact ou orale est faible pour les abeilles et les bourdons, sachant que la plus faible dose administrée est supérieure à la dose théoriquement présente sur la plante (0,25 g/l).

## **II Etude sur couvain**

Cette étude est destinée à évaluer les effets d'une application foliaire de SUPREME (203 g / kg, 100 g s. a./ha) sur le développement du couvain et à les comparer à ceux d'un témoin eau et d'un traitement au fenoxycarbe (référence toxique, 25,7%, régulateur de croissance).

Etude réalisée sous tunnel comportant 4 parcelles de phacélie en fleur.

Sont utilisés 3 tunnels SUPREME, 3 tunnels ref. toxique, 3 tunnels eau.

Un tunnel SUPREME et un tunnel eau supplémentaires sont utilisés pour prélever le pollen.

Une petite ruche de 12 cadres et 6000 individus est placée dans chacun des tunnels 6 jours avant le traitement.

Les traitements sont pulvérisés en présence de butineuses.

#### *Mortalité*

Évaluée par comptage des abeilles mortes dans les trappes et dans les allées entre J-5 et J+7. Après 7 jours, les ruches sont sorties du tunnel mais la mortalité est toujours suivie.

Les courbes de mortalité journalière et de mortalité cumulée ne montrent pas d'effet significatif de SUPREME .

Nombre moyen d'abeilles mortes avant application: 22,8 pour SUPREME, 18,6 pour les contrôles et 15,5 pour pour le réf. toxique. Après traitement ces nombres sont respectivement de 31,3, 26,4 et 26,7.

(p 18 et 19, nombre moyen d'abeilles mortes par tunnel, écart-types? puisque l'on a 3 tunnels pour chaque condition, statistiques?). Mortalité accrue par rapport au témoin pour la réf. toxique ainsi que présence de larves mal formées.

#### *Butinage*

Le nombre de butineuses est relevé 1 fois par jour avant et après le traitement, plusieurs fois dans la journée du traitement et trois fois par jour dans la journée qui suit le traitement, sur 3 parcelles de 1m<sup>2</sup>.

On relève avant traitement 9,2 ab / m<sup>2</sup> dans les tunnels SUPREME, 7.4 ab / m<sup>2</sup> dans les tunnels contrôles et 9,4 ab / m<sup>2</sup> dans les tunnels réf. toxique. Pas d'effet notable de l'application du produit (respectivement 8, 7,2 et 7,9 ab / m<sup>2</sup> dans les tunnels). Malgré le nombre important de données, il n'y a pas de tests statistiques.

#### *Couvain*

Etude pour chaque ruche, du développement de 100 oeufs repérés sur les cadres au moyen de caches transparents 2 j. avant application et suivis jusqu'à 25 jours après le traitement. Un indice allant de 0 à 5 est affecté à chaque stade de développement.

Toutes les valeurs données aux cellules pour chaque traitement, pour la même date, sont additionnées puis divisées par le nombre de cellules observées.

L'indice moyen obtenu (écart-type? Voir fig.5 p 22) ne montre pas de différence entre les ruches SUPREME et contrôle, par contre la réf. toxique a un effet négatif très net.

L'interruption du développement est de 97,9% pour la réf. toxique contre 28,3 % pour SUPREME et 23,7% pour l'eau.

En conclusion, La préparation SUPREME n'a pas d'effet sur le développement du couvain.

#### *Comportement des abeilles*

Aucune différence de comportement n'a été notée devant la ruche ou sur les fleurs.

(Commentaire: Qu'est-ce qui a été noté au juste? Ethogramme?)

#### *Analyses de pollen*

Deux tunnels supplémentaires ont été dressés pour récupérer le pollen dans des trappes à pollen ou directement sur les fleurs de phacélie.

Au vu de l'absence d'effet de la préparation SUPREME sur les différents paramètres, les analyses de pollen ont été jugées inutiles.

Commentaires: l'information avait été explicitement demandée par le groupe abeille et elle était disponible dans cette expérience. C'est une erreur de ne pas l'avoir donnée.

#### *Conclusion:*

Les données supplémentaires renforcent les données initiales obtenues avec la s. a.

La toxicité aiguë sur abeille est de l'ordre de la dizaine de ? g/ab et elle est environ le double sur bourdon, avec des valeurs plus fiables par contact que par voie orale.

On ne note pas de mortalité liée à l'utilisation de SUPREME sous tunnels, de même qu'il n'y a pas d'effet sur le butinage ni sur le développement du couvain. Les conclusions sur le comportement de l'abeille doivent être prises avec précaution car on ne sait pas exactement ce qui a été observé et comment cela a été fait.

Le rapporteur rejette l'argument consistant à dire que l'absence d'effet biologiques dispense de l'analyse des pollens, alors que la demande était explicite et que tout a été mis en oeuvre pour faire ce dosage. Comme les pollens apparemment sont conservés congelés (-18°C), cette analyse est encore possible et doit être faite.