

*Liberté • Égalité • Fraternité*  
**RÉPUBLIQUE FRANÇAISE**



Ministère de l'agriculture  
de l'alimentation  
de la pêche  
et des affaires rurales

## Comité Scientifique et Technique de l'Etude Multifactorielle des Troubles des Abeilles

FIPRONIL UTILISÉ EN  
ENROBAGE DE SEMENCES  
(RÉGENT TS®) ET TROUBLES  
DES ABEILLES

Rapport  
Décembre 2005 validé le 15 mai 2005

Auteur : MP Halm

Centre d'Etudes et de Recherche  
sur le Médicament de Normandie  
5, rue Vaubénard  
14032 CAEN CEDEX

# Comité Scientifique et Technique de l'Etude Multifactorielle des Troubles des Abeilles (CST)

## FIPRONIL UTILISÉ EN ENROBAGE DE SEMENCES (RÉGENT TS®) ET TROUBLES DES ABEILLES

### Auteurs

MP. Halm  
*Centre d'Etudes et de Recherche Sur le Médicament de Normandie*  
Université de Caen, 5 rue Vaubénard  
14032 Caen cedex

### Membres du CST

#### Présidents

D. Marzin: Institut Pasteur Lille  
S.Rault : CERMN, Université de Caen

G. Arnold	CNRS
M. Aubert	AFSSA
J.M. Barbançon	FNOSAD
B. Declercq	DGCCRF
J.P. Faucon	AFSSA
F.Lagarde	CETIOM
M.P. Halm	CERMN, Université de Caen
M. Le Béhec	FNOSAD
J.P.Carlier	DGAL/SDSPA, Ministère de l'Agriculture, de la Pêche et des Affaires Rurales
J.N. Tasei	INRA
E. Thybaud	INERIS
P. Vasseur	CSE, Université de Metz
J. Schiro	SPMF

### Secrétaire de séances

AL-Fondeur Ministère de l'Agriculture, de la Pêche et des Affaires Rurales

# Sommaire

<b>SOMMAIRE</b> .....	<b>3</b>
<b>PREAMBULE</b> .....	<b>6</b>
<b>RESUME</b> .....	<b>7</b>
<b>PREMIERE PARTIE : FIPRONIL ET METABOLITES</b> .....	<b>7</b>
LISTE DES RAPPORTS ET PUBLICATIONS RECENSES SUR LES TROUBLES DES ABEILLES .....	7
RAPPEL DES PROPRIETES PHYSICO-CHIMIQUES.....	7
DONNEES D'EXPOSITION .....	7
<i>Dosages dans le pollen</i> .....	7
<i>Dosages dans le nectar</i> .....	8
<i>Dosages dans le miel de tournesol</i> .....	8
DONNEES DE TOXICITE LIEES A L'UTILISATION DU FIPRONIL .....	8
<i>Mortalité suite à une seule administration de substance active (toxicité aiguë)</i> .....	8
<i>Mortalité suite à une administration répétée de substance active (toxicité chronique)</i> .....	8
<i>Effets sublétaux</i> .....	8
<b>DEUXIEME PARTIE : EVALUATION DES RISQUES</b> .....	<b>9</b>
SCENARIOS D'EXPOSITION DES ABEILLES POUR EVALUER LES RISQUES D'INTOXICATION .....	9
EVALUATION DES RISQUES .....	9
<i>Evaluation de l'exposition (PEC):</i> .....	9
<i>Evaluation des effets (PNEC)</i> .....	10
7. CONCLUSIONS POUR L'ESTIMATION DU RISQUE .....	11
<b>PREMIERE PARTIE : FIPRONIL ET METABOLITES</b> .....	<b>14</b>
<b>1 LISTE DES RAPPORTS ET PUBLICATIONS RECENSES SUR LES TROUBLES DES ABEILLES</b> .....	<b>14</b>
<b>2 RAPPEL DES PROPRIETES PHYSICO CHIMIQUES</b> .....	<b>14</b>
2.1 IDENTITE .....	14
2.1.1 <i>Substance active : fipronil</i> .....	14
2.1.2 <i>Principaux métabolites</i> : .....	15
2.2 PROPRIETES PHYSIQUES ET CHIMIQUES .....	15
2.3 COMPORTEMENT DANS L'ENVIRONNEMENT (ANNEXE 2) .....	15
2.4 VALEURS REGLEMENTAIRES.....	16
<b>3 DONNEES D'EXPOSITION</b> .....	<b>16</b>

3.1	DOSAGES DANS LE POLLEN.....	17
3.1.1	<i>Résultats disponibles</i> .....	17
3.1.2	<i>Validité des résultats</i> .....	20
3.1.3	<i>Commentaires et perspectives</i> .....	26
3.2	DOSAGES DANS LE NECTAR.....	26
3.2.1	<i>Résultats disponibles</i> .....	26
3.2.2	<i>Validité des résultats</i> .....	27
3.2.3	<i>Commentaires et perspectives</i> .....	28
3.3	DOSAGES DANS LE « MIEL DE TOURNESOL ».....	28
3.3.1	<i>Résultats disponibles</i> .....	28
3.3.2	<i>Validité des résultats</i> .....	29
3.3.3	<i>Commentaires et perspectives</i> .....	30
3.4	DOSAGES DU FIPRONIL DANS LES SOLS.....	31
3.5	ETUDES DE METABOLISME.....	31
3.5.1	<i>Résultats disponibles</i> .....	32
3.5.2	<i>Validité des résultats</i> .....	33
3.5.3	<i>Commentaires et perspectives</i> .....	34
3.6	REMANENCE DU FIPRONIL DANS LES SOLS ET CONTAMINATION DES POLLENS ET NECTARS.....	34
3.6.1	<i>Résultats disponibles</i> .....	34
3.6.2	<i>Validité des résultats</i> .....	35
<b>4</b>	<b>CONCLUSION PARTIELLE CONCERNANT LES DOSAGES DE FIPRONIL DANS LES MATRICES VISITEES PAR LES ABEILLES.....</b>	<b>36</b>
<b>5</b>	<b>RECAPITULATIF CONCERNANT LES DONNEES D'EXPOSITIONS SUR TOURNESOL ET MAÏS.....</b>	<b>37</b>
5.1	LES CRITERES DE VALIDATIONS.....	37
5.2	DOSAGES DE FIPRONIL ET DE SES METABOLITES DANS LES POLLENS DE TOURNESOL ET DE MAÏS REGENT TS®.....	37
5.3	DOSAGES DE FIPRONIL ET DE SES METABOLITES DANS LE NECTAR DE TOURNESOL.....	39
5.4	DOSAGES DE FIPRONIL DANS LE MIEL DE TOURNESOL.....	39
5.5	DOSAGES DU FIPRONIL DANS LES SOLS.....	40
5.6	REMANENCE DU FIPRONIL DANS LES SOLS ET CONTAMINATION DES POLLENS ET NECTARS.....	40
5.6.1	<i>Dans les pollens</i> .....	40
5.6.2	<i>Dans le nectar</i> .....	40
<b>6</b>	<b>DONNEES DE TOXICITE.....</b>	<b>41</b>
6.1	EFFETS LETAUX DU FIPRONIL ET DE SES DERIVES SUR LES ABEILLES.....	41
6.1.1	<i>Mortalité suite à une intoxication par une seule administration de substance active</i> .....	41
6.1.2	<i>Mortalité suite à une intoxication chronique (administration répétée de la substance active)</i>	
	43	
6.2	: DONNEES DE TOXICITE SUBLETALE.....	48

6.2.1	<i>En laboratoire</i> .....	48
6.2.2	<i>Sous tunnels</i> .....	49
6.2.3	<i>Etudes en plein champ</i> .....	52
6.3	RECAPITULATIF CONCERNANT LES DONNEES DE TOXICITE DU FIPRONIL ET DE SES METABOLITES ....	56
6.3.1	<i>Intoxication aiguë (1 seule administration)</i> .....	56
6.3.2	<i>Intoxication chronique (1 seule administration)</i> .....	56
6.3.3	<i>: Données de toxicité sublétales</i> .....	58
	<i>Rappel des critères de validation</i> .....	59
<b>7</b>	<b>CAS PARTICULIER DES « ETUDES POUSSIÈRES »</b> .....	<b>61</b>
7.1	ETUDE DES REJETS POTENTIELS DE POUSSIÈRES SUR SEMOIR.....	61
7.2	ETUDE DE LA TOXICITE DES POUSSIÈRES EMISES LORS DU SEMIS DE TOURNESOL TRAITES REGENT TS® VIS-A-VIS DES ABEILLES .....	62
<b>8</b>	<b>EVALUATION DES RISQUES</b> .....	<b>64</b>
8.1	EVALUATION DES EFFETS .....	64
8.1.1	<i>Evaluation des effets à partir des données de toxicité aiguë suite à une seule administration de fipronil</i> .....	64
8.1.2	<i>Evaluation des effets à partir des données de toxicité chronique suite à l'administration répétée de fipronil par voie orale</i> .....	65
8.1.3	<i>Tableau récapitulatif des PNEC</i> .....	65
8.2	EVALUATION DE L'EXPOSITION .....	66
8.2.1	<i>Le calcul des concentrations prédites d'exposition (PEC)</i> .....	66
8.2.2	<i>Cas du pollen</i> .....	66
8.2.3	<i>Cas du nectar et du miel</i> .....	71
8.3	EVALUATION DES RISQUES .....	75
8.3.1	<i>Scénario 1 : consommation de pollen par les larves</i> .....	76
8.3.2	<i>Scénario 2 : consommation de pollen par les nourrices</i> .....	77
8.3.3	<i>Scénario 3 : les butineuses de pollens : intoxication par voie orale</i> .....	78
8.3.4	<i>Scénario 4 : consommation de nectar par les butineuses</i> .....	79
8.3.5	<i>Scénario 5 : les abeilles d'intérieur</i> .....	80
<b>9</b>	<b>CONCLUSION</b> .....	<b>81</b>
	<b>ANNEXE 1 : BIBLIOGRAPHIE</b> .....	<b>85</b>
	<b>ANNEXE 2 : FICHE AGRITOX FIPRONIL</b> .....	<b>89</b>
	<b>ANNEXE 3 : LE FIPRONIL ET SES PRINCIPAUX METABOLITES</b> .....	<b>100</b>

## Préambule

Après avoir rendu son premier rapport concernant l'utilisation de l'imidaclopride en enrobage de semences et conformément aux orientations de sa feuille de route, le CST s'est attaché à étudier l'éventuel rôle du Régent TS® et de sa substance active le fipronil dans les troubles des abeilles, dans le cadre de l'enquête multifactorielle. Les résultats de dosages de résidus fipronil et de ses métabolites se sont avérés très différents selon les laboratoires (BASF, GIRPA, CBM/CNRS, AFSSA). Une réunion technique de concertation entre les différents responsables des laboratoires a donc été organisée par le CST afin de comparer et d'évaluer la validité des techniques de dosages de résidus fipronil. Aucune méthodologie n'a été critiquée et aucun résultat n'a été rejeté à l'issue de cette réunion sans que l'on puisse cependant expliquer l'origine des différences de résultats. Le présent rapport présente donc dans une première partie les conclusions du sous-groupe métrologie concernant les résultats disponibles des dosages de résidus de fipronil et de ses métabolites dans les différentes matrices visitées par les abeilles ainsi que dans les produits de la ruche (miel). Une deuxième partie est consacrée à la toxicité du fipronil vis-à-vis des abeilles. Des précisions concernant la méthodologie d'études de toxicité chronique ont été demandées mais aucune réponse n'a été fournie par le laboratoire ayant produit ces résultats. Le problème d'intoxications dues aux poussières de semis est également mentionné. Enfin une troisième partie est dévolue à l'évaluation de risques vis-à-vis des abeilles du fipronil utilisé en enrobage de semences

Le présent rapport est essentiellement centré sur l'enrobage de semence Régent TS®. Cependant lorsque le CST l'a jugé nécessaire, des données concernant un traitement de sol au fipronil (Schuss) ont été intégrées au rapport.

## Résumé

Face à la controverse soulevée par l'utilisation du Régent TS®, le CST s'est principalement attaché à étudier l'implication du fipronil, matière active du Régent TS® dans les troubles des abeilles observés par les apiculteurs. Ce rapport fait le bilan de l'état actuel des connaissances existantes en décembre 2005 sur les risques liés à l'utilisation du fipronil comme traitement de semences sur tournesol et maïs pour les abeilles. La rédaction suit le plan classique d'une évaluation de risques pour l'environnement, en distinguant l'analyse de l'exposition de celle des effets.

### Première partie : fipronil et métabolites

#### Liste des rapports et publications recensés sur les troubles des abeilles

Dans ce paragraphe sont présentés les documents concernant les données d'expositions et de toxicité, à la base de l'analyse bibliographique :

- 55 rapports d'études ou documents associés fournis par la Direction Générale de l'Alimentation ou par BASF

#### Rappel des propriétés physico-chimiques

Les principales caractéristiques physico-chimiques, toxicologiques, environnementales du fipronil sont reprises dans ce chapitre.

#### Données d'exposition

Ce paragraphe est dévolu à l'analyse des données d'exposition, dosages dans le pollen, le nectar, le miel, puis à la validation de ces données. Elles sont extraites de quinze études issues de laboratoires français et européens, publics ou privés.

#### Dosages dans le pollen

La validation des données permet de conclure que les niveaux de résidus de fipronil contenus dans les pollens de fleurs de tournesol dont les semences ont été traitées Régent TS® se situent en moyenne à 0,06 ppb, ceux contenus dans les pollens de trappes de ruches sur zone tournesol varient de 0,07 à 0,75 ppb selon le pourcentage de pollen de tournesol constituant les pollens étudiés. En ce qui concerne les dosages dans le pollen de maïs, les données validées montrent des teneurs moyennes en fipronil de 0,5 et 0,31 ppb pour les pollens de fleurs et de trappe respectivement. Compte tenu des modifications d'activité de la colonie que peuvent entraîner la pose de trappe à pollen, seuls les dosages de fipronil obtenus à partir de pollen fleurs sont retenus comme représentatifs des quantités de fipronil rentrant dans la colonie. Néanmoins, sans que l'on puisse expliquer pourquoi, les résultats des dosages de fipronil dans les pollens de trappe sont supérieurs à ceux obtenus pour les pollens de fleurs de tournesol, ce qui nous a sans doute conduit à une sous estimation de l'exposition. La valeur de 0,06 ppb est donc retenue pour les scénarios d'exposition et

l'évaluation des risques liés à l'utilisation du fipronil en enrobage de semences tournesol, celle de 0,5 ppb est retenue pour les risques liés à l'utilisation du fipronil en enrobage de semences maïs.

### Dosages dans le nectar

La seule donnée validée conduit à des teneurs en résidus fipronil inférieure à la limite de détection (donc entre 0 et 0,3ppb). Afin d'envisager le pire cas, les experts du CST ont retenu une valeur moyenne de 0,15 ppb.

### Dosages dans le miel de tournesol

Les rares données disponibles et validées ne nous permettent pas, à l'heure actuelle, de donner une estimation de la quantité de fipronil présente dans le miel de tournesol traité Régent TS®. Lorsque les ruches sont placées dans un environnement naturel varié, le miel issu de miellées diverses ne contient pas de résidus de fipronil. Cependant il peut s'agir d'un phénomène de dilution.

## Données de toxicité liées à l'utilisation du fipronil

Ce chapitre est consacré à l'analyse des effets du fipronil sur les abeilles avec l'étude des résultats issus des essais de toxicités aiguë, chronique et sublétales. Les résultats disponibles sont ensuite validés ou invalidés par le CST.

### Mortalité suite à une seule administration de substance active (toxicité aiguë)

Les résultats présentés en toxicité aiguë par voie orale (2 études) pour le fipronil proviennent de protocoles expérimentaux standardisés et donnent des résultats convergents avec des DL<sub>50</sub> allant de 4,17 ng à 10 ng de fipronil par abeille. Les 2 études disponibles sont validées. En ce qui concerne les résultats de la toxicité aiguë par voie topique, on obtient une valeur de DL<sub>50</sub> de 5,93 ng de fipronil par abeille.

Le métabolite MB46136 présente une DL<sub>50</sub> (96h) de 6,4 ng/abeille, le RPA200761 ne présente pas de toxicité à la dose de 1mg/abeille.

### Mortalité suite à une administration répétée de substance active (toxicité chronique)

Les études portant sur la toxicité chronique du fipronil ont été réalisées en laboratoire (1) ou sous tunnels (5). En laboratoire, l'étude validée conduit à une NOEC  $\leq$  8pg/ab.

Seules 2 études d'intoxication par administration répétée de fipronil par voie orale réalisées sous tunnels ont été validées. Elles ne montrent pas de différence significative quant à la mortalité des abeilles sur zone traitée Régent TS® par rapport au témoin.

### Effets sublétaux

Quelques études se sont intéressées aux effets sublétaux. Elles sont très diverses et hétérogènes. Elles ont étudié les effets sublétaux en laboratoire, sous tunnel ou en plein champ

En laboratoire, les données de toxicité orale n'ont pu être évaluées en l'absence de protocole disponible.

Les études validées sous tunnels donnent, suite à des intoxications engendrées par la seule présence de tournesol traité Régent TS®, des résultats contradictoires : soit aucun effet significatif observé entre les témoins et les abeilles sur zone traitée Régent TS® soit une augmentation des troubles comportementaux pendant la floraison du tournesol traité Régent TS®. Quoiqu'il en soit, aucune de ces études ne nous permet de donner une valeur de toxicité de fipronil pour les abeilles.

Aucune étude en plein champ n'a pu être validée dans le cadre de l'effet du fipronil seul sur les troubles des abeilles et ceci en raison, le plus souvent, des possibilités de butinage d'autres cultures, traitées ou non RégentTS® voire Gaucho®. Ces études seront à nouveau expertisées dans le cadre d'effets synergiques des différentes molécules sur les troubles des abeilles.

## **Deuxième partie : évaluation des risques**

### **Scénarios d'exposition des abeilles pour évaluer les risques d'intoxication**

Nous avons proposé cinq scénarios correspondant aux différents modes possibles d'intoxication (intoxication orale ou topique) des différentes stades de la vie de l'abeille (larves, nourrices, butineuses) par le pollen (scénarios 1, 2, 3), le nectar ou le miel (scénarios 3, 4 et 5), soit à la suite d'une consommation immédiate, soit à la suite d'une consommation différée. Ces scénarios sont identiques à ceux présentés par le CST dans son précédent rapport concernant l'imidaclopride.

### **Evaluation des risques**

L'évaluation des risques consiste à comparer une concentration prédite d'exposition, communément appelée "PEC" (*Predicted Environmental Concentration*) à une concentration prévue sans effets pour les organismes de l'environnement, encore appelée "PNEC" (*Predicted No Effect Concentration*). Un risque est alors mis en évidence quand la valeur estimée de la PEC est supérieure à celle de la PNEC.

L'évaluation des risques pour les abeilles liés à l'utilisation du fipronil en enrobage de semences a, comme pour l'imidaclopride, été réalisée selon l'approche « substances chimiques nouvelles et existantes », développée dans le cadre de la réglementation des substances chimiques nouvelles et existantes (Directive 67/548). L'approche phytosanitaire, développée dans le cadre de la réglementation des produits phytosanitaires (Directive 91/414), ne peut s'appliquer dans le cas d'enrobage de semences puisqu'elle est basée sur la notion de doses à l'hectare qui n'a pas de sens réel dans le cas de semences traitées.

### **Evaluation de l'exposition (PEC):**

- Pour le scénario 1 (alimentation des larves) en considérant que le sucre constituant la bouillie larvaire provient entièrement du nectar récolté, la quantité de fipronil ingéré par une larve au bout de 5 jours a été estimée entre 0,09 et 6,9 pg, cette quantité dépendant du pourcentage de contamination du nectar de tournesol ingéré. Par ailleurs, la quantité de pollen ingérée a été considérée comme négligeable en regard de la quantité totale d'aliments ingérés par la larve
- Pour le scénario 2 (consommation de pollen par les nourrices) en supposant une stabilité totale du fipronil lors du stockage du pollen dans la ruche, la quantité de fipronil absorbée par les abeilles dépend, à la fois, du pourcentage de pollen contaminé qu'elle ingère, et de la concentration de fipronil dans ce

pollen. Elle serait comprise entre 0,7 pg et 3,2 pg par abeille (pire cas, peu probable) lorsque la nourrice consomme du pollen de tournesol et entre 1,2 pg et 4,8 pg lors de la consommation de pollen de maïs.

- Pour le scénario 3 (ingestion de pollen par les butineuses), en estimant arbitrairement à 1% la proportion de pollen ingéré par les butineuses de pollen lors de la confection de pelotes, la quantité de fipronil ingéré varie entre 0,06 et 0,27 pg par abeille pour du pollen de tournesol et entre 0,5 et 2,25 pg pour le pollen de maïs. En raison de la fidélité florale des abeilles, le pourcentage de pollen contaminé ingéré sera de 0 ou 100% selon le traitement du champs (non RégentTS® ou Régent TS®). Ces butineuses pourront également s'intoxiquer en consommant du miel pour stocker l'énergie nécessaire à leur vol (scénario4).
- Pour le scénario 4 (consommation de nectar par les butineuses), la quantité de fipronil dépend du pourcentage de nectar de tournesol contaminé que la butineuse ingère pour fournir l'énergie nécessaire au vol, et de la concentration de fipronil dans ce nectar de tournesol. En estimant à 12 heures, le temps moyen de butinage quotidien, la butineuse de nectar ingère entre 10 pg et 52 pg de fipronil par abeille.
- Pour le scénario 5 (consommation de miel de réserve par les abeilles d'intérieur pour assurer la thermorégulation), en supposant une stabilité totale du fipronil lors de la transformation du nectar en miel, la quantité de fipronil absorbée par les abeilles dépend du pourcentage de miel contaminé qu'elle ingère et de la concentration de fipronil dans ce miel. En partant d'une consommation de 0,2 à 0,8 g de miel par abeille pour maintenir une température de 15°C au centre de la ruche et de 5°C à la périphérie, la quantité de fipronil ingérée par abeille varie entre 15 et 300 pg selon le pourcentage de nectar de tournesol contaminé ayant servi à la production du miel.

#### Evaluation des effets (PNEC)

La PNEC est évaluée à partir, soit des données de toxicité aiguë dont nous disposons soit des données de toxicité chronique, soit des données de toxicité sublétales en lui associant un facteur d'incertitude déterminé au cas par cas. Ce facteur prend en compte les incertitudes suivantes :

- la variation intra- et inter-laboratoire,
- l'extrapolation des données de toxicité du court-terme au long terme,
- l'extrapolation du laboratoire au plein champ.

L'adaptation de l'approche « substances chimiques nouvelles et existantes » aux cas spécifiques représentés par l'exposition des abeilles selon les différentes données d'intoxications ont conduit aux estimations présentées dans le tableau ci-dessous :

	<b>Variable observée</b>	<b>Facteur d'incertitude</b>	<b>PNEC</b>
	Mortalité	1000	Orale = 4,17 pg/ab Topique = 5,93 pg/ab
	Toxicité orale DL50 orale = 4,7 ng/ab DL50 topique = 5,93 ng/ab		

Toxicité chronique par voie orale Abeille adulte : NOEC < 8 pg/ab	Mortalité	100	<0,08 pg/ab
----------------------------------------------------------------------	-----------	-----	-------------

## 7. Conclusions pour l'estimation du risque

L'évaluation des risques pour les abeilles présentés par l'enrobage Régent TS® de semences a été menée à partir des scénarios originaux développés dans le cas de l'étude enrobage imidaclopride précédemment

réalisée par le CST. Dans l'état actuel des connaissances, et compte tenu des données actuellement disponibles seuls 4 scénarios ont pu permettre cette évaluation :

- Consommation de pollen par les nourrices et
- Consommation de pollen par les butineuses
- Butineuses de nectar de tournesol,
- Thermorégulation par les abeilles d'intérieur, consommation du miel de réserve.

Un scénario n'a pu être le support de cette évaluation de risques par manque de données :

- Nutrition des larves

Les évaluations réalisées reposent sur les données de concentration en fipronil dans les pollens de fleur de tournesol et de panicule de maïs, validées par le CST (cf.8.2.2 ). Il est important de noter que ces concentrations dans les pollens de fleur ou de panicules sont inférieures à celles observées dans des pollens de trappe et ceci sans qu'il ne soit possible aujourd'hui d'apporter d'explication.

Compte tenu des justifications apportées dans le cas de l'étude imidaclopride précédemment réalisée par le CST (perturbation de l'activité de la colonie suite à la pose de trappe à pollen, pollen d'origine florale diverse) et en l'absence d'information complémentaire conduisant à une mise en cause de celle-ci, il a été décidé de baser les évaluations sur les teneurs dans les fleurs même si ces teneurs peuvent conduire à une sous-estimation de l'exposition des abeilles. De plus, l'évaluation a été menée sur la base de l'exposition à la matrice active fipronil, or certains de ses métabolites (desulfinyl, sulfone, sulfoxyde amide et sulfide) présentent une toxicité chronique comparable à celle de la molécule mère. Une sous estimation de l'exposition est ici encore possible.

Enfin, il est important de rappeler que dans le cas spécifique de cette spécialité (Regent TS®) des observations de terrain (expérimentations et accidents) ont mis en évidence les effets néfastes des poussières émises lors des semis. Ces effets n'ont pas été pris en compte dans l'évaluation et des scénarios reflétant ce type d'exposition n'ont pu être à ce jour développés.

Les rapports PEC/PNEC obtenus selon les scénarios sont indiqués dans le tableau ci-dessous :

Scénario	Rapport PEC/PNEC selon le pourcentage de contamination des produits consommés		Commentaires relatifs aux scénarios
	A partir d' une exposition à du Tournesol traité Regent TS	A partir d' une exposition à du Maïs traité Regent TS	
Scénario 1 : consommation de « bouillie larvaire » par les larves	Rapport PEC/PNEC non déterminé		<b>Absence de données :</b> - de toxicité - de dosages de résidus dans la gelée royale et la « bouillie larvaire » - sur la stabilité du fipronil au cours du stockage dans la ruche
Scénario 2 : consommation de pollen par les nourrices	0,2 à 40	1,5 à 300	<b>Absence de données :</b> - sur la stabilité du fipronil 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	0,01 à 3,4	0,2 à 28	<b>Absence de données :</b> - sur la proportion de pollen ingéré lors de la confection de pelotes - sur la biodisponibilité du fipronil dans un grain de pollen (intoxication topique)
Scénario 4 : consommation de nectar par les butineuses	2,4 à 650	maïs = plante non nectarifère	<b>Absence de données :</b> - de dosages de résidus dans le miel stocké à la ruche Scénario reposant sur une seule analyse de résidus dans le nectar
Scénario 5 : consommation de miel par les abeilles d' intérieur	3,6 à 3750	maïs = plante non nectarifère	<b>Absence de données :</b> -de dosages de fipronil dans le miel -sur la stabilité de fipronil dans le miel lors de son stockage dans la ruche Scénario reposant sur une seule analyse de résidus dans le nectar

**En conclusion, en l'état actuel de nos connaissances, selon les deux scénarios développés pour évaluer l'exposition et en appliquant les facteurs d'incertitude choisis pour évaluer les dangers, les rapports PEC/PNEC obtenus apparaissent comme étant préoccupants.**

Afin d'affiner ce rapport PEC/PNEC, il est absolument nécessaire, d'acquérir rapidement des connaissances supplémentaires concernant la toxicité chronique du fipronil et de ses métabolites vis-à-vis des abeilles de différents âges ainsi que des données de dosages de résidus de fipronil et de ces métabolites dans les différentes matrices visitées par les abeilles et en particulier dans le nectar et la bouillie larvaire.

## Première partie : fipronil et métabolites

### 1 Liste des rapports et publications recensés sur les troubles des abeilles

Le travail de bibliographie s'est appuyé sur les documents réunis par le Ministère de l'Agriculture, de l'Alimentation, de la Pêche et des Affaires Rurales ainsi que sur les documents recherchés dans la littérature scientifique. La liste de ces documents est présentée en Annexe I

Parmi ces documents, le Ministère a fourni 25 rapports d'études ou documents associés en rapport avec le dosage de résidus de fipronil dans les différentes matrices du tournesol et du maïs (pollen, nectar, miel) (Annexe1). Ces rapports proviennent en majorité des sociétés Aventis et BASF, deux rapports préliminaires du CNRS et de l'AFSSA nous ont également été fournis.

### 2 Rappel des propriétés physico chimiques

Les principales caractéristiques du fipronil sont reprises ci-dessous d'après les informations Agritox (<http://www.inra.fr/agritox/php>) et n'ont pas fait l'objet d'une étude de validation par le CST. Nous précisons qu'AGRITOX est une base de données sur les propriétés physico-chimiques, la toxicité, l'écotoxicité, le devenir dans l'environnement, les données réglementaires des substances actives phytopharmaceutiques autorisées en France. Cette base a été créée par le département de Phytopharmacie et d'Ecotoxicologie de l'INRA. 80 % des informations proviennent des dossiers toxicologiques de demande d'homologation déposés par les industriels au niveau français et européen, et 20 % sont de source bibliographique. Dans certains cas, les données présentées peuvent donc ne pas correspondre à la situation internationale. La fiche complète d'information est présentée dans l'annexe 2, l'annexe 3 présente les structures chimiques du fipronil et de ses principaux métabolites.

#### 2.1 Identité

##### 2.1.1 Substance active : fipronil

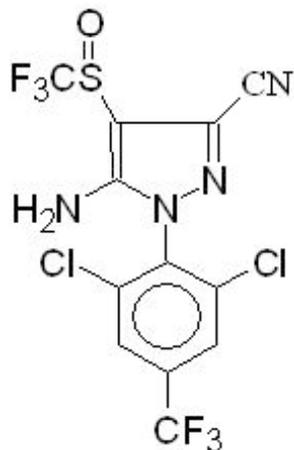
Activité(s) biologique(s) principale(s) : insecticide

Famille chimique : pyrazole ; dénomination : fipronil

Noms chimiques : 1H-PYRAZOLE-3-CARBONITRILE, 5-AMINO-1-[2,6-DICHLORO-4-(TRIFLUOROMETHYL)PHENYL]-4-[(TRIFLUOROMETHYL)SULFINYL]-

Formule brute : C<sub>12</sub> H<sub>4</sub> Cl<sub>2</sub> F<sub>6</sub> N<sub>4</sub> O S

Formule développée :



Poids moléculaire : 437,5

### 2.1.2 Principaux métabolites :

Les principaux métabolites du fipronil correspondant aux cultures de tournesol traitées Régent TS® sont :

- le composé désulfinyl MB46513 : ce composé est formé essentiellement après photolyse, c'est essentiellement un produit de dégradation abiotique. Néanmoins ce composé est également obtenu dans le cas de métabolisation dans le maïs
- le composé sulfone MB46136;
- le composé sulfure MB45950
- le composé sulfoxyde-amide RPA200766

Ces trois derniers métabolites sont obtenus après dégradation du fipronil dans les sols et sont également les produits finaux du métabolisme du fipronil dans les tournesols et maïs.

La structure chimique précise est présentée en annexe 3.

Un autre métabolite a été récemment mis en évidence par BASF suite à une étude de translocation dans le tournesol : le RPA 200761

## 2.2 Propriétés physiques et chimiques

Etat physique : solide blanc à odeur de moisi

Tension de vapeur : 0,37  $\mu$ Pa

Solubilité dans l'eau : 1,9 mg/l à 20°C

Log P = 4 à 20°C

Stabilité dans l'eau : temps de demi vie >30jours au pH de 5 à 7 ; 28 jours au pH de 9

## 2.3 Comportement dans l'environnement (Annexe 2)

**Persistance en plein champ** : DT50 (en jours) : min : 96 ; max : 135

**Photodégradation dans le sol** DT50 (en jours) : 34, source de lumière : xénon, photopériode : 8/16 équivalent à une journée de Floride, dose d'application : 0.25 kg/ha, sol : type : limon argileux, localisation :

USA Floride

**Adsorption et désorption** (Koc et Kd) : Koc adsorption : min : 2671 ; Koc désorption : min : 2491

Le fipronil se dissipe dans les sols avec une demie vie de 3 à 5 mois, la DT 90 varie de 10 à 15 mois. Les métabolites se dégradent également de manière continue mais plus lentement (6 mois < DT50 < 11 mois, 21 mois < DT90 < 38 mois). Les mouvements latéraux de dissipation sont limités et 90% du fipronil reste dans les premiers 20cm du sol, il est donc peu mobile.

Le fipronil est classé comme persistant sur la base du système de classification SSLRC (Soil Survey and Land Research Centre)

## **2.4 Valeurs réglementaires**

**T N R23/24/25 R48/25 R50/53** (Décision de la Commission des Toxiques le 20/10/03)

T : Toxique

N : dangereux pour l'environnement

R23/24/25 : toxique par inhalation, contact avec la peau et par ingestion

R48/25 toxique : risque d'effets graves pour la santé en cas d'exposition prolongée par ingestion

R50/53 : très toxique pour les organismes aquatiques, peut entraîner des effets néfastes à long terme pour l'environnement aquatique

## **3 Données d'exposition**

Face au problème d'une éventuelle intoxication des abeilles par le fipronil, il convient de déterminer les quantités de cette molécule auxquelles les abeilles pourraient être exposées, principalement par l'intermédiaire des pollens de tournesol et de maïs, du nectar de tournesol ou du miel de tournesol.

En ce qui concerne les données d'exposition, toutes les parties prenantes (BASF, CNRS/CBM, GIRPA) ont accepté d'être auditées par le CST et de discuter ensemble de leurs méthodologies et résultats.

La plupart des études portant sur le dosage de résidus fipronil ont été effectuées avec des méthodes moyennement sensibles. C'est pourquoi, nous ne pouvons valider que quelques résultats sous certaines conditions parmi ceux disponibles. Les données recueillies sont présentées de la façon suivante : l'ensemble des données disponibles apparaît dans un premier paragraphe pour chaque matrice, dans le deuxième paragraphe sont présentées les raisons de validation ou d'invalidation des données avec le descriptif des principaux résultats. Enfin, un paragraphe sera dédié aux commentaires sus-cités et à l'exposé des perspectives. Cette présentation sera utilisée pour tous les types de données.

Dix neuf rapports concernant les dosages de résidus de fipronil et métabolites dans le nectar (n=6), pollen (n=11) et miel (n=3) de tournesol issus de semences enrobées Régent TS® nous ont été fournis. Parmi ceux-ci, huit concernent des dosages dans du tournesol non traité l'année du prélèvement mais cultivés sur sol ayant reçu un traitement « fipronil en enrobage de semence », l'année précédente (Maïs Régent TS® ou céréales Texas®)

Les études sont réalisées sur des plantes cultivées en champ ou sous tunnels. Les variétés de tournesol peuvent être différentes

## 3.1 Dosages dans le pollen

### 3.1.1 Résultats disponibles

#### Traitement Régent TS®

**Tableau I : Résultats annoncés des dosages de résidus fipronil et de ses métabolites dans les pollens de fleurs de tournesol et de maïs traités Régent TS®**

Effectifs	Prélèvement/Variétés/	Substances dosées	LD (ppb)*	LQ (ppb)	Résultats (ppb) ou nombre d'échantillons*	Références	Laboratoires	Techniques de dosages du fipronil et métabolites	Techniques d'extraction
2	Fleurs/Tournesol Pegasol	Fipronil MB46513 MB46136 MB45950	0,3	1	<LQ <LQ <LQ <LQ	M262, Référence4, Salvi, 2002	ADME Bioanalyses (Aventis CRLD)	HPLC/MS-MS	Eau/méthanol (10/1)
2	Fleurs/Tournesol salsa	Fipronil MB46513 MB46136 MB45950	0,3	1	<LQ <LQ <LQ <LQ	M262, Référence5, Salvi, 2002	ADME Bioanalyses (Aventis CRLD)	HPLC/MS-MS	Eau/méthanol (10/1)
14	Fleur/ Tournesol	Fipronil MB46513 MB46136 MB45950	0,07	0,2	11 échantillons<LD 2 échantillons>LD 1 échantillon>LQ(0,23) <LD <LD <LD	M314, Bonmatin, 2004	CBM/CNRS	GC/MS	
8	Fleur/ Tournesol (différentes variétés)	Fipronil MB46513 MB46136 MB45950 RPA200766	-	0,5	<LQ <LQ <LQ <LQ <LQ	M 316 , Tisseur, Decourty, 2005	BASF	LC/MS-MS	Eau/méthanol (10/1)
2	Fleurs/Tournesol	Fipronil MB46513 MB46136 MB45950 RPA200766	-	0,5	<LQ <LQ <LQ <LQ <LQ	M 317 (France) , Schur, 2005	GAB (BASF)	LC/MS-MS	Eau/méthanol (10/1)
3	Fleurs/Tournesol	Fipronil MB46513 MB46136 MB45950 RPA200766	-	0,5	1 échantillon<LQ 2 échantillons >LQ (0,8 ; 5,4) 2 échantillons<LQ 1 échantillon= LQ <LQ	M 317 (Espagne), Schur, 2005	GAB (BASF)	LC/MS-MS	Eau/méthanol (10/1)
8	Fleur/maïs	Fipronil MB46513 MB46136 MB45950	0,07	0,2	6 échantillons<LD 1 échantillon>LD 1 échantillon>LQ(0,8) <LD <LD <LD	M314, Bonmatin, 2004	CBM/CNRS	GC/MS	
13	Fleur/maïs	Fipronil MB46513 MB46136 MB45950 RPA200766			9 échantillons <LQ 4 échantillons >LQ (1,6 ; 1,9 ; 6,8 ; 10,5) 11 échantillons <LQ 2 échantillons >LQ (2,1 ; 2,3) <LQ	M318 , Schur, 2005 Echantillon Espagne	GAB (BASF)	LC/MS-MS	Eau/méthanol (10/1)
8	Fleur/maïs	Fipronil MB46513 MB46136 MB45950 RPA200766	-	0,5	6 échantillons< LQ 2 échantillons>LQ (0,71 ; 0,86) <LQ	M 320 Barnavon, 2005, M321, Kerl, Mackenroth, 2005	GAB (BASF)	LC/MS-MS	Eau/méthanol (10/1)
18	Fleur/ maïs	Fipronil MB46513 MB46136 MB45950 RPA200766	-	0,5	16 échantillons <LQ 2 échantillons >LQ (5,7 ; 0,65) <LQ	M 316 , Tisseur , Decourty 2005	BASF	LC/MS-MS	Eau/méthanol (10/1)
12	Fleur/maïs	Fipronil MB46513 MB46136 MB45950 RPA200766	-	0,5	<LQ	M 319 , Moreno	BASF	LC/MS-MS	Eau/méthanol (10/1)

\*Lorsque le nombre d'échantillon n'est pas précisé dans la colonne « résultats », cela signifie que tous les échantillons ont la valeur indiquée. Les études **en blanc** correspondent aux résultats validés décrits dans le paragraphe suivant

\* Dans ces études, il semblerait que la limite de détection n'ait pas été déterminée lors de l'expérimentation. Après interrogations des rapporteurs de ces études, la firme BASF estime que la méthode doit être capable de détecter des concentrations équivalentes à 30% de la LQ soit 0,3 ppb lorsque la LQ est égale à 1 et 0,6 ppb lorsqu'elle est égale à 2 ppb. Cette approche a été acceptée par le CST. Néanmoins, en ce qui concerne les études de 2005 (M 316, 317, 318, 319, 321), la firme n'a pas réitérée cette approche et n'a pas souhaitée préciser la LD (valeur manquante : -)

**Tableau II : Résultats annoncés des dosages de résidus fipronil et de ses métabolites dans les pollens de trappe de ruches installées sur champs de tournesol et de maïs traités Régent TS®**

Effectifs	Prélèvement/Variétés/	Substances dosées	LD (ppb)*	LQ (ppb)	Résultats (ppb) ou nombre d'échantillons*	Références	Laboratoires	Techniques de dosages du fipronil et métabolites	Techniques d'extraction
2	Trappe à pollen, plein champ, tournesol albena, % de pollen de tournesol indéterminé	Fipronil MB46513 MB46136 MB45950	0,6	2	<LQ <LQ <LQ <LQ	M118, Goller, 1999 , M117 Maurin, , 1999 M116, Roper, 2000	ADME Bioanalyses (Aventis CRLD)	GC/MS-MS	Eau/méthanol (10/1)
1	Trappe à pollen, sous tunnels, variété non précisée	Fipronil MB46513 MB46136 MB45950	0,6	2	<LD <LD <LD <LD <LD	M121, M119 Ayoub, Kieken Part3/3, 2001	Aventis CRLD	GC/MS	Eau/méthanol (10/1)
15	Trappe à pollen, sous tunnels, tournesol aurosol	Fipronil MB46513 MB46136 MB45950 RPA200766	-	0,5	<LQ <LQ <LQ <LQ <LQ	M322 , Decourty Tisseur, , 2005	BASF	LC/MS-MS	Eau/méthanol (10/1)
23	Trappe à pollen, ruches à proximité d'une zone de tournesol traité Régent TS®♦	Fipronil	0,07	0,2	17 échantillons<LD 3 échantillons>LD 3 échantillons>LQ (0,34 ; 0,26, 2,36)	M314, Bonmatin, 2004	CBM/CNRS	GC/MS	
MB46513		<LD							
MB46136		19échantillons<LD 3échantillons>LD 1échantillon>LQ(0,5)							
MB45950		19échantillons<LD 4échantillons>LD							
12	Trappe à pollen, ruches à proximité d'une zone de maïs traité Régent TS®♦	Fipronil	0,07	0,2	3échantillons<LD 5échantillons>LD 4échantillons>LQ (0,22 ; 0,28 ; 0,6 ; 0,85)	M314, Bonmatin, 2004	CBM/CNRS	GC/MS	
MB46513		<LD							
MB46136		11 échantillons<LD 1échantillon>LD							
MB45950		8échantillons<LD 4échantillon>LD							

♦ Les pollens de trappe sont issus de ruches situées en plein champ ou sous tunnel, la proportion de pollen de tournesol ou de maïs est variable selon les échantillons. Un échantillon positif pour un composé peut l'être également pour un autre composé. Les études **en blanc** correspondent aux résultats validés décrits dans le paragraphe suivant.

Les échantillons de pollen de tournesol ont été récoltés selon les bonnes pratiques de laboratoire. Ils proviennent soit de trappes à pollen de ruches placées sous tunnels (M121, M314, M322) ou en plein champ (M117, M118, M314) soit des capitules de tournesol cultivés en plein champ (M262, M314, M316, M317) ayant également reçus des traitements fongicides. Pour ces derniers, les capitules sont ensachés quelques jours avant le prélèvement. L'extraction du fipronil et de ses résidus est effectuée avec une solution de méthanol (10/1), le dosage se fait soit par HPLC/MS-MS soit par GC/MS ou GC/MS-MS ou encore LC/MS-MS.

Quatre récentes études (M317, M318, M319, M321) se sont intéressées à la détection de résidus fipronil

\* Dans ces études, il semblerait que la limite de détection n'ait pas été déterminée lors de l'expérimentation. Après interrogations des rapporteurs de ces études, la firme BASF estime que la méthode doit être capable de détecter des concentrations équivalentes à 30% de la LQ soit 0,6 ppb lorsque la LQ est égale à 2. Cette approche a été acceptée par le CST. Néanmoins, en ce qui concerne les études de 2005 (M322), la firme n'a pas réitérée cette approche et n'a pas souhaitée préciser la LD (valeur manquante : -)

et métabolites dans le pollen de fleurs de maïs, une seule étude (M314) traite de résidus fipronil issus de pollen de maïs trié à partir de pollen de trappe.

### Traitement Schuss

Deux études se sont intéressées aux résidus de fipronil dans le tournesol après un traitement Schuss (Tableau III). Le tournesol est cultivé soit en plein champ (M264) soit sous tunnel (M265).

**Tableau III : Résultats des dosages des résidus fipronil et de ses métabolites dans le pollen de tournesol après un traitement Schuss®**

Effectifs	Prélèvements /Variétés	Substances dosées	LD (ppb)	LQ (ppb)	Résultats (ppb)	Références	Laboratoires	Techniques de dosages du fipronil et métabolites	Techniques d'extraction
6	Fleur plein champ/ variété non précisée	Fipronil MB46513 MB46136 MB45950 RPA200766	0,4	1	<LQ <LQ <LQ <LQ <LQ	M264 Ayoub, Kieken Part1/3, 2001	Aventis CRLD	GC/MS	acétonitrile
4	Fleur sous tunnels/ variété non précisée	Fipronil MB46513 MB46136 MB45950 RPA200766	0,6	2	LQ <LQ <LQ <LQ <LQ	M265, Ayoub , Kieken, part 2/3 ; 2001	Aventis CRLD	GC/MS	acétonitrile

Les études **en blanc** correspondent aux résultats validés décrits dans le paragraphe suivant.

### Environnement naturel varié

Une étude menée par l'AFSSA et le Girpa, dans le cadre de l'enquête multifactorielle des troubles des abeilles, a recherché le niveau de contamination éventuel au fipronil de différents ruchers au sein de 5 départements. Une recherche de résidus de fipronil et de ses métabolites a été menée dans différents échantillons de pollen de trappe récoltés à différentes périodes (automne, sortie hiver, printemps, été). L'environnement des ruches est varié et les abeilles peuvent butiner plusieurs essences florales traitées ou non au fipronil. Les échantillons prélevés sont donc constitués de différents types de pollen, dans des proportions variables avec des traitements phytosanitaires variés. Les résultats de cette étude sont rassemblés tableau IV.

**Tableau IV : Résultats des dosages de résidus de fipronil et de ses métabolites dans les pollens de trappes de issus de différents ruchers**

Effectifs	Prélèvement/ Variété	Substances dosées	LD (ppb)	LQ (ppb)	Résultats (ppb) Nombre d'échantillons	Références	Laboratoires	Techniques de dosages du fipronil et métabolites	Techniques d'extraction
57	Trappe a pollen/plein champ, variété indéterminée, traitement indéterminé	Fipronil	0,3	2	47<LD 10>LD	M303 <sup>1</sup> , Faucon et Chauzat, 2004	Girpa	GC-MS/MS	méthanol
		MB46136 Dérivé sulfone			49<LD 6>LD 2 =3,3 ; 3,6				
		MB46513 Dérivé désulfinyl			55<LD 2>LD				
17	Trappe a pollen/plein champ, variété indéterminée, traitement indéterminé	Fipronil	0,3	1	17<LD				
MB46136		17<LD							
MB46513		16<LD 1=1,5							
7	Trappe a pollen/plein champ, variété indéterminée, traitement indéterminé	Fipronil	0,3	0,5	7<LD				
		MB46136			6>LD 1=1,7				
		MB46513			7<LD				

- : données non renseignées. Les études **en blanc** correspondent aux résultats validés décrits dans le paragraphe suivant.

### 3.1.2 Validité des résultats

Les critères de validations des résultats de dosages de pollen retenus par les membres du CST sont identiques à ceux préalablement utilisés dans le cadre du rapport «Imidaclopride utilisé en enrobage de semences (Gaucho®) et troubles des abeilles : rapport final », à savoir :

- N°1 : un nombre d'échantillons provenant de sites distincts et permettant une analyse statistique. Dans certains cas (dosage de nectar) plusieurs expérimentations peuvent être regroupées à condition que les méthodes de prélèvements et dosages soient homogènes.
- N°2 : un historique complet et sans ambiguïté des échantillons et des méthodes d'échantillonnages selon le substrat étudié.
- 

#### Dans notre étude concernant le fipronil, le critère n°3 a été modifié

- N°3 : des limites de quantification et de détection annoncées dans les études et suffisamment basses (LQ=1 ou 2 ppb ; LD≤0,6 ppb). Lorsque la LD est ≤0,6, une LQ de 2 ppb est acceptée. Lorsque la LD n'est pas précisée, une LQ de 1 ppb est exigée.
- N°4 : une méthode de dosage spécifique du fipronil et de ses métabolites afin de limiter les

<sup>1</sup> Pour cette étude, seuls les résultats de la première analyse ont été pris en compte

incertitudes lors de l'évaluation de risques (pas de dosages de résidus totaux),

- N°5 : un poids d'échantillon conforme au poids requis par la validation de la méthode,
- N°6 : des échantillons représentatifs des conditions naturelles environnementales.

### 3.1.2.1 Dosages dans les pollens de tournesol et de maïs

#### Traitement Régent TS®

Les limites de quantification des études M118, M121 sont supérieures à celles exigées par les membres du CST. Par ailleurs, dans l'étude M118, le pourcentage de recouvrement du métabolite MB46513, obtenu lors de la validation des résultats, se situe en dehors de la limite d'acceptabilité déterminée par le laboratoire lui-même. De ce fait ces études ne sont pas validées.

Les études M262 (références 4 et 5), M 316, M317, M319, M321, M322 répondent positivement aux exigences du CST. Les résultats obtenus au cours des différentes études sont cohérents, ce qui nous permet de valider ces études. Cependant, d'après BASF, l'indication « inférieur » à la limite de quantification ne suggère pas forcément la présence de résidus fipronil en quantité comprise entre la limite de détection et la limite de quantification. Autrement dit, même si les résultats indiquent « inférieur à la limite de quantification », nous ne pouvons affirmer que des résidus ont été détectés. Bien que validées d'un point de vue méthodologique et devant l'impossibilité de la firme d'affirmer ou non la détection, les échantillons inférieurs à la limite de quantification ne peuvent être pris en compte pour déterminer une valeur chiffrée d'exposition permettant de mener à terme une évaluation de risque. Seuls les échantillons supérieurs à la limite de quantification seront pris en compte (M316, M321)

Les études M317 et M318 quantifient les résidus d'échantillons de pollens en provenance de France, Espagne, Allemagne. Certains de ces échantillons, en provenance d'Espagne se sont révélés positifs à la quantification de résidus fipronil et MB46513. Ces prélèvements réalisés en Espagne montrent des échantillons témoins contenant également des résidus de fipronil, ce qui peut suggérer un problème méthodologique. De ce fait ces études sont invalidées

Le rapport du CNRS/CBM en date du 26 novembre 2004 répond également aux critères de validation du CST et nous permet également une première approximation des quantités de fipronil présentes ou non dans les différents types de pollen. D'autres prélèvements doivent encore être analysés. Les échantillons proviennent soit de pollens de trappe de ruches situées à proximité d'un champ de tournesol ou maïs traités Régent TS®, soit de pollens de trappe de ruches situées sous tunnels, soit de pollens de tournesols directement prélevés sur capitules. En ce qui concerne les pollens de trappe traités Régent TS®, certains ont fait l'objet d'une analyse pollinique, d'autres sont issus de ruches placées sous tunnels et ne contiennent donc que du pollen de l'espèce étudiée, d'autres encore ne comportent aucune précision quant à leur constitution.

Sur l'ensemble des échantillons, les teneurs en résidus fipronil et métabolites dans les pollens de fleurs de tournesol ou de maïs traités Régent TS®, les résultats montrent que la plupart des échantillons ne présentent pas de résidus fipronil détectables (79 et 75% pour le tournesol et le maïs respectivement).

Cependant la substance active a été détectée dans 2 échantillons de pollen de tournesol et dans un échantillon de pollen de maïs. Elle a également été quantifiée dans un échantillon de pollen de chacune des espèces. La contamination des pollens de fleurs est du même ordre que celle des pollens de trappe situés sur une zone non traitée. Cette légère contamination peut s'expliquer par le fait que le pollen de trappe est constitué d'un mélange de pollen issus de plusieurs espèces florales et on ne peut exclure que les abeilles soient aller butiner hors de la parcelle de tournesol non traité Régent TS®. En ce qui concerne les résultats de dosages dans les pollens de trappe de tournesol et de maïs récoltés sur une zone traitée Régent TS®, la contamination semble supérieure à celle des pollens de fleurs. La répartition des échantillons montre que 26% des échantillons des pollens de trappe de tournesol traité Régent TS® contiennent des résidus fipronil avec ou sans métabolites. Par ailleurs 13% des échantillons montrent uniquement des métabolites suggérant la présence préalable de fipronil. On peut ainsi considérer que 39% des échantillons ont été contaminés par du fipronil. En ce qui concerne le pollen de trappe récolté près d'une zone de maïs traitée Régent TS®, la contamination est encore plus importante puisque 75% des échantillons présentent des résidus fipronil ou ses métabolites en quantité quantifiable ou non.

Malheureusement certains de ces échantillons n'ont pas fait l'objet d'une estimation du pourcentage de pollen de tournesol ou de maïs traités Régent TS®. Dans l'objectif d'une évaluation des risques prenant en compte le pire cas, nous avons donc choisi de ne prendre en compte que les pollens présentant majoritairement du tournesol ou du maïs traités Régent TS® ainsi que les pollens de trappe issus de ruche sous tunnels afin de chiffrer l'exposition des abeilles à la molécule fipronil.

Les teneurs moyennes en fipronil et en métabolites dans ces différents pollens sont présentées tableau V

En ce qui concerne les résultats de dosages dans les pollen de trappe de tournesol et de maïs traités Régent TS®, si l'on considère les échantillons pour lesquels une analyse pollinique a montré la présence de l'espèce considérée traitée Régent TS® à au moins 50%, la contamination semble supérieure à celle des pollens de fleurs, en particulier en ce qui concerne le maïs. **Les teneurs moyennes en fipronil dans le pollen de trappe de tournesol traité Régent TS® varient de 0,07 à 0,75 ppb selon le pourcentage de pollen de tournesol contaminé. En ce qui concerne le pollen de trappe de maïs traité Régent TS® (50%au moins) la teneur moyenne en fipronil est de 0,31 ppb** (le cas des expériences sous tunnels (100% de pollen de maïs) n'a pas été pris en compte, compte tenu du faible nombre d'échantillons).

En ce qui concerne les métabolites, seuls les dérivés sulfure (MB45950) et sulfone ont été retrouvés en quantité moyenne comprises entre la limite de détection et la limite de quantification.

**Les pollens de fleurs de tournesols** montrent une contamination moyenne de l'ordre de **0,06ppb**, **les pollens de fleurs de maïs une teneur moyenne en résidus fipronil de l'ordre de 0,5 ppb(moyenne de 0,02 et 0,1 ; moyenne de 0,24 et 0,77)**

**Tableau V : Résultats des dosages validés de fipronil dans les pollens de tournesols et maïs**

Type de pollen	Nombre d'échantillons	Teneurs en fipronil (ppb) <sup>2</sup>	Répartition des échantillons pour le fipronil	Teneurs en métabolites (ppb)		
				MB46513	MB45950	MB46136
Pollen de trappe, Tournesol non traité Régent TS®	10	<b>0,02 &lt; μ &lt; 0,1</b> 0 < Méd < 0,07 0,07 < 90 <sup>ème</sup> p < 0,2 0 < 10 <sup>ème</sup> p < 0,07		0 < μ < 0,07 0 < med < 0,07 0 < 90p < 0,07 0 < 10p < 0,07	0 < μ < 0,07 0 < med < 0,07 0 < 90p < 0,07 0 < 10p < 0,07	0 < μ < 0,07 0 < med < 0,07 0 < 90p < 0,07 0 < 10p < 0,07
Pollen de fleurs de tournesol traité Régent TS®	14	<b>0,03 &lt; μ &lt; 0,1</b> 0 < Méd < 0,07 0,07 < 90 <sup>ème</sup> p < 0,2 0 < 10 <sup>ème</sup> p < 0,07		0 < μ < 0,07 0 < med < 0,07 0 < 90p < 0,07 0 < 10p < 0,07	0 < μ < 0,07 0 < med < 0,07 0 < 90p < 0,07 0 < 10p < 0,07	0 < μ < 0,07 0 < med < 0,07 0 < 90p < 0,07 0 < 10p < 0,07
Pollen de fleurs de maïs traité Régent TS®	12	<b>0,24 &lt; μ &lt; 0,77</b> 0,04 < Méd < 0,07 0,5 < 90 <sup>ème</sup> p < 0,86 0 < 10 <sup>ème</sup> p < 0,07		0 < μ < 0,07 0 < med < 0,07 0 < 90p < 0,07 0 < 10p < 0,07	0 < μ < 0,07 0 < med < 0,07 0 < 90p < 0,07 0 < 10p < 0,07	0 < μ < 0,07 0 < med < 0,07 0 < 90p < 0,07 0 < 10p < 0,07
Pollen de trappe, tournesol traité Régent TS® (au moins 50%)	7	<b>0,02 &lt; μ &lt; 0,11</b> 0 < Méd < 0,07 0,07 < 90 <sup>ème</sup> p < 0,2 0 < 10 <sup>ème</sup> p < 0,07		0 < μ < 0,07 0 < med < 0,07 0 < 90p < 0,07 0 < 10p < 0,07	<b>0,02 &lt; μ &lt; 0,11</b> 0 < med < 0,07 0,07 < 90p < 0,2 0 < 10p < 0,07	<b>0,01 &lt; μ &lt; 0,09</b> 0 < med < 0,07 0,03 < 90p < 0,12 0 < 10p < 0,07
Pollen de trappe, 100% tournesol (sous tunnels)	4	<b>0,74 &lt; μ &lt; 0,76</b> Méd = 0,3 90 <sup>ème</sup> p = 1,75 0,08 < 10 <sup>ème</sup> p < 0,12		0 < μ < 0,07 0 < med < 0,07 0 < 90p < 0,07 0 < 10p < 0,07	0 < μ < 0,07 0 < med < 0,07 0 < 90p < 0,07 0 < 10p < 0,07	<b>0,16 &lt; μ &lt; 0,24</b> 0,07 < med < 0,2 0,4 = 90p 0,02 < 10p < 0,1
Pollen de trappe, maïs traité Régent TS® (au moins 50%)	8	<b>0,28 &lt; μ &lt; 0,34</b> 0,15 < Méd < 0,21 90 <sup>ème</sup> p = 0,68 0,07 < 10 <sup>ème</sup> p < 0,2		0 < μ < 0,07 0 < med < 0,07 0 < 90p < 0,07 0 < 10p < 0,07	<b>0,04 &lt; μ &lt; 0,14</b> 0,04 < med < 0,14 0,07 < 90p < 0,2 0 < 10p < 0,07	<b>0 &lt; μ &lt; 0,08</b> 0 < med < 0,07 0,02 < 90p < 0,1 0 < 10p < 0,07
Pollen de trappe, 100% maïs (sous tunnels)	2	<b>0,03 &lt; μ &lt; 0,14</b> 0,03 < Méd < 0,14 0,06 < 90 <sup>ème</sup> p < 0,19 0 < 10 <sup>ème</sup> p < 0,08		0 < μ < 0,07 0 < med < 0,07 0 < 90p < 0,07 0 < 10p < 0,07	0 < μ < 0,07 0 < med < 0,07 0 < 90p < 0,07 0 < 10p < 0,07	0 < μ < 0,07 0 < med < 0,07 0 < 90p < 0,07 0 < 10p < 0,07

μ = moyenne, med = médiane, 90p = 90<sup>ème</sup> percentile, 10p = 10<sup>ème</sup> percentile

<sup>2</sup> La valeur moyenne calculée est encadrée par une valeur minimale et une valeur maximale, chacune calculée à partir des valeurs limites de quantification et de détection. Par exemple, si LD = 0,07 ppb et LQ = 0,2 ppb, on choisit d'encadrer un échantillon A ayant une teneur en fipronil < LD par les valeurs 0,00 et 0,07. Un échantillon B ayant une teneur en fipronil < LQ aura une valeur comprise entre 0,07 et 0,2. Ces conventions sont utilisées lors de toutes nos estimations. Lorsque la LD n'est pas renseignée, un échantillon compris entre la LD et la LQ prendra une valeur de LQ/2.

## Traitement Schuss

L'étude M264 présente un faible taux de recouvrement (<50%) obtenu pour les échantillons de pollen non traités lors de la phase de validation des résultats, ce qui peut souligner une faible sensibilité de la méthode utilisée. Cette étude est cependant en accord avec les critères de validation du CST même si le nombre d'échantillon dosé est faible. Il en est de même pour l'étude M265 (Ayoub et Kieken, 2001). Néanmoins, pour les mêmes raisons que le traitement de graines de semences par le Régent TS®, il nous est impossible de chiffrer l'exposition des abeilles après un traitement de sol par la préparation Schuss®.

### 3.1.2.2 Dosages dans les pollens de trappe issus d'un environnement naturel varié

Les études du Girpa et de l'AFSSA, menées dans le cadre de l'enquête multifactorielle prospective, consistent en une recherche de résidus dans différents ruchers de différentes régions, au cours des saisons. Les colonies de ces ruchers ont été suivies périodiquement (1 visite par saison). Au cours de ces visites, des prélèvements de pollen de trappe ont été effectués. Il est évident que le pollen récolté provient de plusieurs espèces florales, traitées ou non au fipronil. Ces dosages sont donc le reflet d'un environnement dont on ne connaît pas l'état des traitements, ni les plantes contaminées. C'est pourquoi ces études montrent une grande variabilité des résultats obtenus. S'il est vrai que la limite de quantification de la méthode a été validée à 2 ppb dans un premier temps par le CST, les données bibliographiques supplémentaires acquises au cours de l'étude multifactorielle des troubles des abeilles, les progrès techniques réalisés par les différents laboratoires sus cités (Aventis, CBM) et le nombre d'échantillons présentant des traces non quantifiables, a poussé le CST à exiger du laboratoire responsable des analyses un abaissement de la limite de quantification à 1 ppb. De ce fait, la limite de quantification a été abaissée à 1 ppb au cours de la quatrième saison d'échantillonnage (été 2003). Parmi les 81 échantillons analysés aucun ne montre de teneur en résidus de fipronil supérieurs à la limite de quantification quelle qu'elle soit. Cependant des métabolites du fipronil ont été détectés dans 20% des échantillons (15% montrent des teneurs comprises entre la limite de détection et la limite de quantification et 5% des teneurs quantifiables). Cette teneur en résidus fipronil et métabolites semble varier en fonction des saisons (tableau VI).

**Tableau VI : Teneurs en résidus de fipronil et de ses métabolites au cours des saisons pour la matrice pollen** <sup>1</sup> (prise d'essai pelotes de pollen)

	Automne 2002 ● (n=9)	Sortie d'hiver 2003 ● (n=24)	Printemps 2003 ●◆ (n=24)	Été 2003 ◆■ (n=17)	Automne 2003 ■ (n=7)
fipronil	2 échantillons <LQ 7 échantillons <LD	16 échantillons <LD 8 échantillons <LQ	24 échantillons <LD	17 échantillons <LD	7 échantillons <LD
MB46136 Dérivé sulfone	9 échantillons <LD	17 échantillons <LD ; 6 échantillons <LQ, 1 échantillon >LQ : 3,3	23 échantillons <LD; 1 échantillon >LQ=3,7	17 échantillons <LD	6 échantillons <LD 1 échantillon <LQ
MB46513 Dérivé désulfanyl	9 échantillons <LD	22 échantillons <LD, 2 échantillons <LQ	<LD= 24	16 échantillons <LD; 1 échantillon >LQ=1,5	7 échantillons <LD

●LD=0,3ppb, LQ=2ppb; ◆LD=0,3ppb; LQ=1ppb; ■LD=0,3 ; LQ=0,5ppb

Seuls les échantillons prélevés en automne 2002 (22% des échantillons) et à la sortie de l'hiver (29%) présentent des résidus de fipronil. Parmi les échantillons positifs pour le fipronil de la sortie de l'hiver, 57% contiennent également le résidu MB46136 et 28% le résidu MB46513. Dix échantillons ont une teneur en résidus comprise entre la limite de détection (0,3ppb) et la limite de quantification (2ppb). Le métabolite MB46136 a été quantifié 2 fois (sortie hiver et printemps) avec une teneur moyenne de 3,5 ppb. Le métabolite MB46513 a été quantifié une fois en été. 9 échantillons ont été analysés une deuxième fois selon la même méthode, les résultats sont différents de ceux obtenus lors de la première analyse ce qui a conduit les auteurs à s'interroger sur l'homogénéité des échantillons (sous forme de pelotes de pollen). La recherche de résidus a été recommencée en modifiant la méthode de préparation, aucun résidu n'a été détecté. Quant aux 17 échantillons analysés avec une limite de quantification de 1 ppb, 1 seul montre un résultat quantifiable. Le résidu quantifié est le métabolite MB46513. Ce métabolite n'est cependant plus quantifié lors de la deuxième analyse. En ce qui concerne les échantillons de l'automne 2003, à l'inverse aucun échantillon ne révèle la présence de fipronil malgré une limite de quantification abaissée.

Cette partie de l'étude est acceptable d'un point de vue méthodologique, cependant l'analyse pollinique ne permet pas de trancher quant à la responsabilité de l'enrobage de semences sur la contamination du pollen de trappe par le fipronil. En effet parmi les 81 échantillons analysés, la plupart ne contenaient pas de pollens de tournesols ou de maïs. Seuls 9 échantillons présentaient des profils polliniques dont le pollen principal était le tournesol ou le maïs dont un seul contenait du fipronil et/ou ses métabolites.

Nous soulignerons cependant que les résultats font état d'une teneur en résidus fipronil plus importante à la sortie de l'hiver. Compte tenu des résultats concernant l'émission de poussières contenant des résidus fipronil lors du semis, de la présence de résidus fipronil dans la ruche en sortie d'hiver et de son absence lors des autres saisons, il est possible que cette contamination concomitante à l'époque des semis soit la résultante d'une émission de poussières.

On notera également la distribution géographique des échantillons pollués par le fipronil ou ses métabolites. Un certain nombre d'échantillons présentant du fipronil ou ses métabolites proviennent du département de l'Eure (5/16), département où la culture de tournesol et de maïs n'est pas majoritairement répandue. La contamination par le fipronil pourrait alors provenir d'autres plantes traitées et plus particulièrement de semis de céréales. Certains échantillons provenant de L'Indre et du Gers montrent également des échantillons positifs au fipronil ou à ses métabolites.

### 3.1.3 Commentaires et perspectives

A l'heure actuelle, les résultats de dosages de fipronil et de ses métabolites **dans les pollens de fleurs de maïs et de tournesols** montrent une contamination moyenne de l'ordre de **0,06ppb pour les pollens de fleurs de tournesols et de 0,5 ppb pour les pollens de fleurs de maïs**. Peu d'échantillons montrent des teneurs supérieures à la limite de quantification. En ce qui concerne le pollen de trappe, les teneurs moyennes maximales (pelote constituée de 100% de tournesol traité Régent TS® ou d'au moins 50% de maïs traités Régent TS®) sont de **0,7 ppb** pour le pollen de trappe de tournesol traités Régent TS® et de **0,3** pour le pollen de trappe de maïs traités Régent TS®. Pour le pollen de trappe de maïs, on rappellera cependant le problème de dilution des pollens de trappe, ils sont constitués de pollens d'origine différentes et un pollen de trappe récolté dans une ruche sur zone traitée Régent TS® peut contenir du pollen de tournesol ou de maïs non traité. Afin de pallier ces problèmes de dilution, si d'autres dosages doivent être effectués, les prélèvements de pollen de trappe devraient s'effectuer dans des ruches placées sous tunnels au sein d'une culture de tournesols traitée Régent TS®.

En ce qui concerne les métabolites du fipronil, nous ne pouvons expliquer le fait qu'un laboratoire (CBM/CNRS) détecte des résidus fipronil sans métabolite et qu'un autre (Girpa) détecte des résidus fipronil toujours en présence de ses métabolites.

## 3.2 Dosages dans le nectar

Les échantillons de nectar de tournesol ont été prélevés sur des cultures de plein champ (M262, références 2 et 3) ou à partir de « jabot » de butineuses (M322).

Le prélèvement de nectar extra-floral a également été tenté mais les quantités récoltées étaient insuffisantes pour une analyse de résidus.

Enfin un échantillon de nectar de bourdon a été récolté au sein de nids installés à proximité des ruchers.

### 3.2.1 Résultats disponibles

#### Traitement Régent TS®

Pour la matrice nectar (Tableau VII), les résidus fipronil sont dosés par méthode GC/MS, GC/ECD (M262) ou LC/MS-MS après extraction à l'eau. Le nectar a été récolté au cours d'une seule journée, sur différents pieds de tournesol (M262) ou par dissection de jabot de butineuses d'une ruche placée sous tunnel en présence de pieds de tournesol traités ou non (M322).

L'étude M118 concerne des dosages de résidus fipronil dans du nectar de bourdon récolté directement au sein des urnes des nids.

**Tableau VII : Résultats des dosages de résidus fipronil et de ses métabolites dans le nectar de tournesol après un traitement de graines de semences Régent TS®**

Effectifs	Prélèvement/ Variétés	Substances dosées	LD (ppb)	LQ (ppb)	Résultats (ppb)	Références	Laboratoires	Techniques de dosages du fipronil et métabolites	Techniques d'extraction
2	Fleurs, plein champ /Tournesol Pegasol	Fipronil MB46513 MB46136 MB45950 RPA200766	0,3	1	<LD <LD <LD <LD <LD	M262, Référence2, Ayoub & kieken, 2002	Aventis CRLD	GC/MS	eau
2	Fleurs, plein champ/ Tournesol Salsa?	Fipronil MB46513 MB46136 MB45950 RPA200766	0,3	1	<LD <LD <LD <LD <LD	M262, Référence3, Ayoub & kieken, 2002	Aventis CRLD	GC/MS	eau
1	Nectar de bourdon/Tour nesol albena	Fipronil MB46513 MB46136 MB45950	0,6	2	<LQ <LQ <LQ <LQ	M118* Goller ;1999 M116 Ropper, 2000	ADME Bioanalyses (Aventis CRLD)	G C/ECD	eau
12	Nectar de tournesol sous tunnels/jabot de butineuses	Fipronil MB46513 MB46136 MB45950 RPA200766	-	0,5	<LQ <LQ <LQ <LQ <LQ	M322, Decourtye, Tisseur, 2005	BASF	LC/MS-MS	eau

\* nectar de bourdon.. Les études **en blanc** correspondent aux résultats validés décrits dans le paragraphe suivant.

### Traitement Schuss

Nous ne disposons d'aucune étude concernant les résidus fipronil dans le nectar de tournesol après un traitement Schuss

### **3.2.2 Validité des résultats**

Les critères de validation sont identiques à ceux utilisés pour les dosages de fipronil dans les pollens

#### **3.2.2.1 Dosages dans les nectars de tournesol**

L'étude M118, M116 n'a pas permis d'obtenir de résultats concernant la teneur en résidus fipronil dans le nectar de tournesol, les quantités récoltées étant insuffisantes. Les limites de quantification et de détection utilisée de la méthode de dosage sont conformes aux critères de validation du CST. Néanmoins, les résultats ne portent que sur un seul échantillon.

Les études M262 (références 2 et 3) et M322 sont acceptables d'un point de vue des critères de validation. L'étude M322 montre que les teneurs en fipronil sont inférieures à la limite de quantification (0,5 ppb) sans que la limite de détection ne soit précisée. Ce résultat ne nous permet donc pas de quantifier la teneur en fipronil dans le nectar puisque à l'instar du pollen, cette convention d'écriture utilisée par les firmes pour les dossiers d'homologation ne sous entend pas forcément que le produit a été détecté mais ne peut être quantifié. « Inférieur à la limite de quantification » peut également suggérer que la substance n'a pas été détectée. Si le même problème s'était précédemment posé pour l'étude M262, de nouveaux résultats fournis par BASF indiquent que tous les échantillons de cette étude présentent des teneurs en fipronil et métabolites

inférieurs à la limite de détection ce qui conduit à une première estimation de la quantité de fipronil et métabolites présents dans le nectar de 0,15 ppb.

### 3.2.3 Commentaires et perspectives

Les rares données disponibles et validées permettent, de donner une estimation de la quantité de fipronil présente dans le nectar de tournesol traité Régent TS®. Il convient cependant d'être prudent quant à l'interprétation de cette valeur puisqu'elle est basée sur un nombre d'échantillons très faible. Il est nécessaire d'obtenir d'autres résultats de dosages dans nectar de fleurs de tournesol ou au sein de la ruche. Le prélèvement de nectar à partir du jabot des butineuses permet un échantillonnage conséquent.

### 3.3 Dosages dans le « miel de tournesol »

Deux études (M118, Goller, 1999 ; M121, Ayoub et Kieken, 1999) se sont attachées à rechercher d'éventuelles traces de fipronil dans le miel d'abeilles récolté dans des ruches situées soit à proximité d'un champ de tournesol traité Régent TS®, soit sous tunnels au sein d'une parcelle de Tournesol Régent TS® (Tableau VIII).

De la même manière, des résidus de fipronil ont été recherchés dans le miel après un traitement de sol par la préparation Schuss® sur tournesol en plein champ ou sous tunnels (tableau IX).

#### 3.3.1 Résultats disponibles

##### Traitement Régent TS®

**Tableau VIII : Résultats des dosages de résidus fipronil et de ses métabolites dans le miel de tournesol après traitement Régent TS®**

Effectifs	Prélèvement/ Variétés/	Substances dosées	LD (ppb)	LQ (ppb)	Résultats (ppb)	Références	Laboratoires	Techniques de dosages du fipronil et métabolites	Techniques d'extraction
2	Ruches en plein champ/ variét é non précisée	Fipronil MB46513 MB46136 MB45950	0,6	2	<LQ <LQ <LQ <LQ	M118 Goller ;1999 M116 Ropper, 2000,	Rhône Poulenc Agro France	GC/ECD	eau
3 *	Ruches sous tunnels/ variété non précisée	Fipronil MB46513 MB46136 MB45950 RPA200766	0,3	1	<LQ <LQ <LQ <LQ <LQ	M121, 1999, Ayoub, kieken M119	Rhône Poulenc Agro France	GC/MS	eau

4 échantillons mais trois en quantité suffisante pour un dosage.. Les études **en blanc** correspondent aux résultats validés décrits dans le paragraphe suivant.

## Traitement ds sol par la préparation Schuss®

**Tableau IX : Résultats des dosages de résidus fipronil et de ses métabolites dans le miel de tournesol après un traitement Schuss**

Effectifs	Prélèvement/ Variétés	Substances dosées	LD (ppb)	LQ (ppb)	Résultats (ppb)	Références	Laboratoires	Techniques de dosages du fipronil et métabolites	Techniques d'extraction
3	Ruches en plein champ/ variété non précisée	Fipronil MB46513 MB46136 MB45950 RPA200766	0,3	1	< LQ <LQ <LQ <LQ <LD	M264 Ayoub, Kieken Part1/3, 2001	Aventis CRLD	GC/MS	acétonitrile
8	Ruches sous tunnels/ variété non précisée	Fipronil MB46513 MB46136 MB45950 RPA200766	0,3	1	< LQ <LQ <LQ <LQ <LQ	M265, Ayoub , Kieken, part 2/3 ; 2001	Aventis CRLD	GC/MS	acétonitrile

Les études **en blanc** correspondent aux résultats validés décrits dans le paragraphe suivant

## Environnement naturel varié

**Tableau X : Résultats des dosages de résidus de fipronil et de ses métabolites dans du miel issu de ruches placées dans un environnement naturel varié**

Effectifs	Variétés/ Conditions de cultures	Substances dosées	LD (ppb)	LQ (ppb)	Echantillons	Références	Laboratoires	Techniques de dosages du fipronil et métabolites	Techniques d'extraction
99	Ruche plein champ/ enviro nnement varié	Fipronil MB46136 MB46513	0,3	2	99<LD	M303, Faucon et Chauzat	Girpa, Afssa	LC/MS	eau

Les études **en blanc** correspondent aux résultats validés décrits dans le paragraphe suivant

Pour la matrice miel, les échantillons proviennent de ruches placées en plein champ (M118, M303) ou sous tunnels (M121). En ce qui concerne l'étude de l'Afssa, les ruches ont fait l'objet d'un suivi pendant une année apicole et le miel a été analysé après des miellées diverses, à différentes périodes : automne, sortie hiver, printemps, été (M303). Les dosages se font par chromatographie gazeuse et quantification ECD ou MS. Les résidus fipronil ont été extraits à l'eau.

### **3.3.2 Validité des résultats**

Les critères de validation sont identiques à ceux utilisés pour les dosages de fipronil dans les pollens

#### **3.3.2.1 Dosages dans le miel de tournesol**

##### Traitement Régent TS® (tableau VIII)

L'étude M118 présente les résultats de dosages de résidus fipronil dans du miel récolté au sein de ruches placées en conditions de plein champ. L'analyse est conforme aux critères de validation du CST. Néanmoins, l'étude précise que tous les tournesols situés à proximité de la ruche (rayon 1,5

km) étaient traités Régent TS®. Cependant, compte tenu des distances importantes que peuvent parcourir les abeilles lors de la récolte de nectar, nous ne pouvons exclure le fait que les quantités de résidus fipronil présentes dans le miel sont certainement diluées de manière importante d'où l'intérêt de faire une analyse des pollens dans les échantillons qui seront dosés. Les abeilles ont pu récolter du nectar de tournesol non traité Régent TS® ou du nectar d'autres essences florales.

A contrario, les échantillons de miel analysés dans l'étude M121 proviennent de ruches élevées sous tunnels. Le miel récolté est donc issu à 100% de fleurs de tournesol traitées Régent TS®. La limite de quantification répond également positivement aux critères de validation du CST. Par ailleurs, parmi les 4 échantillons récoltés, seuls trois sont exploitables car en quantité suffisante. Cependant la convention d'écriture des résultats (LQ) ne sous entend pas forcément que les échantillons ont été détectés. Il nous est donc impossible de chiffrer la teneur en fipronil du miel

#### Traitement Schuss (tableau IX)

En ce qui concerne les dosages de résidus fipronil dans le miel suite à un traitement Schuss, les résultats sont pratiquement identiques, que les échantillons proviennent d'une ruche située en plein champ ou sous tunnel. Les 11 échantillons montrent des résidus fipronil inférieurs à la limite de quantification. Il en est de même pour les résultats de dosages concernant les métabolites, excepté le RPA200766 qui n'est pas détecté dans les 3 échantillons de miel issus de tournesol plein champ. Les limites de quantifications et de détection de ces études sont conformes aux critères de validation du CST mais l'étude ne permet pas de donner une estimation chiffrée de la teneur en fipronil et métabolites.

#### **3.3.2.2 Dosages dans le miel de ruches placées dans un environnement naturel varié**

En ce qui concerne l'étude de l'AFSSA (tableau X), sur les 99 échantillons testés, aucun ne montre de résidus de fipronil ou de ses métabolites. Les limites de quantification et de détection sont conformes aux critères de validation établis par le CST. Cette étude peut donc être validée. Les résultats montrent que tous les dosages sont inférieurs à la limite de détection quelle que soit la saison de prélèvement.. Néanmoins, les échantillons de miel proviennent de ruches ayant fait l'objet d'un suivi pendant une année apicole, le miel analysé provient donc de miellées diverses où la miellée de tournesol peut être présente ou non et issue de tournesol traités fipronil ou non. Nous pouvons donc simplement conclure que ce miel issu de miellées diverses ne contient pas de résidus fipronil.

#### **3.3.3 Commentaires et perspectives**

Les rares données disponibles et validées, ne nous permettent pas à l'heure actuelle, d'estimer la quantité de fipronil présente dans le miel de tournesol lorsque celui-ci est issu de ruches situées au sein de cultures de tournesol traitées au fipronil (traitement de sols ou traitement de semences). Il convient d'obtenir d'autres résultats de dosages.

Lorsque les ruches sont placées dans un environnement varié, le miel ne contient pas de résidus de

fipronil. Il s'agit certainement d'un phénomène de dilution, plusieurs essences florales sont à la disposition des abeilles et les quantités de fipronil susceptibles d'être ramenées à la ruche sont donc moins importantes. Cette diversité du butinage concourt à une diminution de l'exposition.

### **3.4 Dosages du fipronil dans les sols**

Nous ne disposons d'aucune donnée concernant des résidus fipronil ou métabolites dans les sols après culture de semences Régent TS. Les seules données dont nous disposons sont issues du résumé du dossier toxicologique fourni par la firme Bayer (section VII).. A titre d'indication, lorsque le fipronil est appliqué dans la raie de semis (granulés à 2% à la dose de 200g/ha), sa demi vie varie entre 3 et 5mois. L'étude montre une dégradation des métabolites a une vitesse plus lente ( $6 < DT50 < 11$  mois) ; les résidus sont peu mobiles. Après 24 mois de traitement les résidus sont majoritairement confinés dans les 30 premiers cm. Pour une application en surface (granulé 0,1%,50g/ha ou pulvérisation) la demi vie du fipronil varie entre 5 et 8 jours selon le type de sol. Le produit de dégradation MB46513 a été retrouvé en quantité importante quelques heures après le traitement. Les résidus ont également été retrouvés dans les 30 premiers cm.

En ce qui concerne l'accumulation du fipronil dans le sol, la persistance des résidus est observée après incorporation du fipronil dans la raie de semis sous forme de granulés à 2% à la dose de 200 g/Ha (traitement Schuss) de substance active. Les valeurs maximales de la demi vie du fipronil et des métabolites totaux sont respectivement égales à 4,5 et 11,4 mois.

Compte tenu de la DT50 dans le sol et des teneurs en résidus fipronil que l'on trouve l'année du prélèvement dans les différentes parties de la plante, le CST considère, sous réserve d'un avis de spécialiste des sols, comme minime voire inexistant le risque de passage de résidus fipronil dans une culture l'année suivante.

### **3.5 Etudes de métabolisme**

Ces études expérimentales (tableau XI) font état de l'analyse de résidus fipronil dans le tournesol ou le maïs après un traitement phytosanitaire à base de fipronil radioactif dans une formulation « granules » ou « solution ». Du fipronil radioactif est ainsi incorporé dans la terre de culture et son éventuelle absorption et dégradation dans le tournesol ou le maïs est mesurée. La détection de la radioactivité se fait par combustion puis scintigraphie liquide, la détermination des différents résidus et leur quantification par HPLC/MS.

### 3.5.1 Résultats disponibles

Tableau XI : Résultats des dosages de résidus fipronil et de ses métabolites dans les différentes parties végétales du maïs et du tournesol

Echantillons (n)	Espèces/ Variétés/ mode de culture	LD (ppb)	LQ (ppb)	Radioactivité totale (ppm <sup>14</sup> C-fipronil équivalent)*	Substances dosées	Résidus (ppm) (% TTR)	Références	Techniques de dosages du fipronil et métabolites	Techniques d'extraction
		donnée							
Feuilles = 11	Tournesol/ Granasol / Culture en pot	1	10	1,43 (4% dose appliquée)	Fipronil	0,48 (30%TTR)	M208, Bellet et al, 1993	HPLC-MS	méthanol
					MB46136	0,22 (14%TTR)			
					RPA200766	0,11 (7.1%TTR)			
					MB45950	0,041 (2.,6%TTR)			
					Autres	0,159 (9.9%TTR)			
Tiges = 11				0.13 (0.6%dose appliquée)	Fipronil	0,034 (4.3%TTR)			
					MB46136	0,012 (1.5 %TTR)			
					Autres	0,019 (2,4 %TTR)			
Capitules =11				0,033 (0.083% dose appliquée)	Autres	0,021 (1,5 % TTR)			
Graine = 11				0,034 (0.12% dose appliquée)	Autres	0,029 (2,7%TTR)			
Fourrage vert (42j)	Maïs/ Jubilee / Culture en pot	5	10 /5	0.21	Fipronil	0,08 (39.9%TTR)	M203, Yenne et Stone, 1994	HPLC-MS	acétonitrile
					MB46136	0,02 (8.7%TTR)			
					RPA200766	0,03 (12.7%TTR)			
					Fipronil	0,45 (12,1%TTR)			
					MB46136	1,02 (27,6%TTR)			
					RPA200766	0,94 (25,3%TTR)			
					RPA200761	0,29 (7.7%TTR)			
					MB45950	0,06 (1.7TTR)			
Grains (98j)				0.16 (0.3% dose appliquée)	Conjugué RPA200766	0.14			
Fourrage vert (42j)	Maïs/ Jubilee	5	10 /5	0,112	Fipronil	0,044 (39.1%TTR)	M204, Yenne et Jesudason, 1995	HPLC-MS	acétonitrile
					MB46136	0,013 (11.6%TTR)			
					RPA200766	0,033 (29.9%TTR)			
					RPA200761	0,012 (10.3%TTR)			
					Fipronil	0,061 (12.1%TTR)			
					MB46136	0,082 (16.2%TTR)			
					RPA200766	0,194 (38.4%TTR)			
					RPA200761	0,008 (1.6%TTR)			
					RPA105320	0,007 (1.4%TTR)			
Grains (98j)				0,013 (0.01% dose appliquée)	RPA200766	0,008 (60.4%TTR)			

\* Les résultats sont exprimés en pourcentage de poids frais. <sup>1</sup> La limite de quantification est de 5 pour la quantification de la radioactivité totale, elle passe à 10 pour l'identification et la quantification des résidus la radioactivité Les études **en blanc** correspondent aux résultats validés décrits dans le paragraphe suivant.

### 3.5.2 Validité des résultats

Les critères de validation sont identiques à ceux utilisés pour les dosages de fipronil dans les pollens.

L'étude M208 (tableau XI) concerne l'analyse de résidus de fipronil dans les différentes parties végétales du tournesol après un traitement à base de fipronil sous forme de granules incorporés à la terre à une dose équivalente à 200 g de substance active radioactive par hectare. Cette dose correspond au traitement Schuss. Cette étude conclut à une absorption du fipronil par la plante au cours de sa croissance. A 1 mois, le tournesol a absorbé en moyenne 1.32 % de la radioactivité appliquée, à maturité cette absorption est de 4, 8%. L'isolement et la purification des composés indiquent que le fipronil est le résidu majoritaire dans la tige et les feuilles. Les feuilles ont stocké l'essentiel de la radioactivité, elles contiennent 0,034 µg/g <sup>14</sup>C équivalent fipronil. On notera également la présence des métabolites MB46136 (en majorité) et MB45950. Les limites de quantification et de détection de ces études sont supérieures à celles exigées par les membres du CST, cette étude devrait donc être invalidée. Néanmoins, les résidus fipronil et métabolites sont suffisamment abondants pour être quantifiés, les restrictions concernant ces limites ne sont donc pas ici nécessaires. L'étude est ainsi validée. Il en est de même pour l'étude M204. Cette étude M204 (Yenne et Jesusdason, 1995) qui concerne le devenir du <sup>14</sup>C dans le maïs. La radioactivité a été analysée aux stades « fourrage vert », « fourrage sec » ainsi que dans les grains de maïs. Dans le fourrage sec, on retrouve en moyenne 480 ppb de résidus radioactifs <sup>14</sup>C équivalents fipronil, dans le fourrage vert 112 ppb et dans le grain 13 ppb. Dans le fourrage vert, le fipronil est le résidu majoritaire alors que c'est le RPA200766 qui apparaît comme étant majoritaire dans le fourrage sec et les grains de maïs.

Les études M203 (Yenne et Stone, 1994) et M204 (Yenne et Jesusdason, 1995) se rapportent à l'analyse de résidus fipronil dans les différentes parties végétales du maïs. Les maïs sont cultivés en pots et le <sup>14</sup>C fipronil est appliqué sous une formulation « granulé » ou « pulvérisation ».

L'étude M203 montre une absorption importante de <sup>14</sup>C équivalent fipronil dans le fourrage : 3,70 ppm dans le fourrage ancien, ce qui correspond à 4% de la dose appliquée. Cette radioactivité se retrouve essentiellement au niveau foliaire et est majoritairement due au fipronil (39,9%). Néanmoins, les doses appliquées dans cette étude sont presque deux fois supérieures à celles autorisées (371g/sa/ha au lieu de 200g/sa/ha). Les limites de quantification de cette étude sont également supérieures à celles définies par les membres du CST. De ce fait, l'étude M203 (Yenne et Stone, 1994) n'est pas validée.

Enfin il est à noter l'existence d'une autre expérimentation (non encore étudiée) de translocation dans le tournesol qui met en évidence dans les capitules uniquement le

métabolite RPA200761 à une teneur maximale de 1,4 ppb.

### 3.5.3 Commentaires et perspectives

Peu de résultats sont disponibles concernant la présence de résidus de fipronil et de ses métabolites dans les différentes parties des végétaux. Ces études donnent une répartition des résidus fipronil et métabolites dans les plantes mais ne présentent que peu d'intérêt dans le cadre de la problématique d'une exposition des abeilles aux résidus du fipronil et des métabolites par l'intermédiaire des différentes matrices qu'elles visitent.

## 3.6 Rémanence du fipronil dans les sols et contamination des pollens et nectars

Quelques études se sont attachées à déterminer la rémanence du fipronil à travers des dosages dans du pollen (Tableau XII) ou nectar (Tableau XIII) de tournesol non traité Régent TS® mais cultivé sur sol ayant reçu un traitement à base de fipronil l'année précédent le prélèvement, soit sous forme de maïs Régent TS® soit de céréales TEXAS®( enrobage semences céréales 50g sa/q).

### 3.6.1 Résultats disponibles

#### 3.6.1.1 Dans les pollens

**Tableau XII : Résultats des dosages de résidus fipronil et de ses métabolites dans les pollens de tournesol non traités Régent TS® mais cultivés sur sol ayant reçu un traitement « fipronil » l'année précédente**

Effectifs	Variétés à n/ culture à n-1	LD (ppb) donnée	LQ (ppb)	Substances dosées	Résultats (ppb)	Références	Laboratoires	Techniques de dosages du fipronil et métabolites	Techniques d'extraction
2	Tournesol Bellix/maïs traité Régent TS®.	0,3	1	Fipronil MB46513 MB45950 MB46136 RPA200766	<LQ <LQ <LQ <LQ <LQ	M297,A8 Sole, 2002	ADME Bioanalyses Etude Bayer	HPLC/MS- MS	méthanol
2	Tournesol Albena/maïs traité Régent TS®.	0,3	1	Fipronil MB46513 MB45950 MB46136 RPA200766	<LQ <LQ <LQ <LQ <LQ	M297,A6 Sole, 2002	ADME Bioanalyses Etude Bayer	HPLC/MS- MS	méthanol
2	Tournesol variété non précisée	0,3	1	Fipronil MB46513 MB45950 MB46136 RPA200766	<LQ <LQ <LQ <LQ <LQ	M296, A2 Salvi, 2002	ADME Bioanalyses Etude Bayer	HPLC/MS- MS	méthanol
2	Tournesol Albena/maïs traité Régent TS®.	0,3	1	Fipronil MB46513 MB45950 MB46136 RPA200766	<LQ <LQ <LQ <LQ <LQ	M296, A4 Salvi,2002	ADME Bioanalyses Etude Bayer	HPLC-MS- MS	méthanol

Les études **en blanc** correspondent aux résultats validés décrits dans le paragraphe suivant.

### 3.6.1.2 Dans le nectar

**Tableau XIII : Résultats des dosages de résidus fipronil et de ses métabolites dans les nectar de tournesol non traités Régent TS® mais cultivés sur sol ayant reçu un traitement « fipronil » l'année précédente**

Effectifs	Variétés à n/ culture à n-1	LD (ppb)	LQ (ppb)	Substances dosées	Résultats (ppb)	Références	Laboratoires	Techniques de dosages du fipronil et métabolites	Techniques d'extraction
2	Tournesol Albena/maïs traité Régent TS®.	0,3	1	Fipronil MB46513 MB45950 MB46136 RPA200766	<LQ <LQ <LQ <LQ <LQ	M297,A5 Ayoub et kieken, 2002	CRD, Bayer	GC/MS-	eau
2	Tournesol Bellix/maïs traité Régent TS®.	0,3	1	Fipronil MB46513 MB45950 MB46136 RPA200766	<LQ <LQ <LQ <LQ <LQ	M297,A7 Ayoub et kieken, 2002	CRD, Bayer	GC/MS-	eau
2	Tournesol variété non précisée/Céréales TEXAS®	0,3	1	Fipronil MB46513 MB45950 MB46136 RPA200766	<LQ <LQ <LQ <LQ <LQ	M296, A1 Ayoub et kieken, 2002	CRD, Bayer	GC/MS-	eau
1	Tournesol variété non précisée /Céréales TEXAS®	0,3	1	Fipronil MB46513 MB45950 MB46136 RPA200766	<LQ <LQ <LQ <LQ <LQ	M296, A3 Ayoub et kieken, 2002	CRD, Bayer	GC/MS-	eau

. Les études **en blanc** correspondent aux résultats validés décrits dans le paragraphe suivant.

### 3.6.2 Validité des résultats

Les critères de validation sont identiques à ceux utilisés pour les dosages de fipronil dans les pollens

Toutes les études présentées ici sont conformes aux critères de validation établis par les membres du CST. On notera néanmoins un nombre d'échantillons faible pour chaque étude qu'il serait souhaitable d'augmenter afin d'avoir des estimations réalistes des quantités de résidus de fipronil éventuellement présentes. Les études montrent des résultats inférieurs à la limite de quantification. Compte tenu de la demi-vie du fipronil et de la non quantification de résidus fipronil l'année du prélèvement, nous pouvons considérer ici que l'indication « inférieur à LQ » sous entend ici que le composé n'a pas été détecté.

## **4 Conclusion partielle concernant les dosages de fipronil dans les matrices visitées par les abeilles**

D'une manière générale, **la plupart des données** disponibles concernant le dosage de résidus de fipronil et de ses métabolites **ne permettent pas de chiffrer une exposition des abeilles au fipronil** dans les différentes matrices utilisées par les abeilles (pollen, nectar, miel). Les résultats obtenus sont variables. Les études de BASF ne nous permettent pas de conclure quant à l'exposition en partie en raison d'un manque d'indication sur la signification du terme « inférieur à la LQ ».

Actuellement, la synthèse des résultats validés nous permet d'avancer une teneur en fipronil de **0,7 ppb dans les pollens de trappe de ruches placées en bordure de cultures de tournesol traitées Régent TS® et de 0,3 ppb dans les pollens de trappe de maïs de ruches placées en bordure de cultures de maïs traitées Régent TS®**. Les concentrations en fipronil dans les pollens de fleurs semblent plus faibles. **Elles sont respectivement de 0,06 et 0,5 pour les pollens de fleurs de tournesols et de maïs. Compte tenu du peu de données disponibles mais contradictoires, ces résultats sont à considérer avec précaution.**

Cependant, même si le fipronil est détecté dans une gamme de concentration relativement faible, la contamination semble relativement importante puisque 80% des pollens de trappe semblent contaminés.

Les études de l'AFSSA et du Girpa renseignent sur un niveau de contamination global des produits de la ruche et montre que le fipronil est extrêmement dilué dans le pollen. Cela souligne la nécessité d'un tri sélectif des pelotes de pollen dans ce type d'études. Par ailleurs, nous ne possédons actuellement aucune donnée concernant l'environnement de ces ruches. Cette étude se place donc dans un contexte particulier et il est possible (et cela doit être vérifié) que des résultats différents soient obtenus dans les zones de grandes cultures traitées Régent TS® lors d'une miellée de tournesol.

Par ailleurs, nous regrettons le manque de données chiffrées quant à la présence de résidus de fipronil et de ses métabolites dans le nectar. Le faible nombre d'échantillons disponibles (n=4) nous permet, en considérant un pire cas de faire une première estimation d'une teneur de 0,15 ppb dans le nectar de tournesol (moyenne des bornes <LD). Il semble donc absolument nécessaire de réaliser de nouveaux dosages de résidus de fipronil et de ses métabolites, dans des conditions d'exposition clairement définies mais qui dans le contexte actuel d'interdiction d'utilisation du fipronil en enrobage de semences, ne pourront être que des conditions artificielles. Si l'on estime qu'il est important d'arriver à une conclusion nette concernant l'exposition des abeilles au fipronil et à ses métabolites, des études en tunnels avec des semences spécialement traitées sont souhaitables. En effet, compte tenu de l'interdiction d'utilisation du fipronil en enrobage de semences, les analyses en champ ne reflèteront que d'éventuels effets de rémanence. En ce qui concerne les dosages dans la matrice nectar, le prélèvement de nectar devrait se faire à partir des jabots d'abeilles butineuses élevées sous tunnels avec une culture de tournesol traitée Régent TS®.

## 5 Récapitulatif concernant les données d'expositions sur tournesol et maïs

### 5.1 Les critères de validations

- N°1 : un nombre d'échantillons provenant de sites distincts et permettant une analyse statistique. Dans certains cas (dosage de nectar) plusieurs expérimentations peuvent être regroupées à condition que les méthodes de prélèvements et dosages soient homogènes.
- N°2 : un historique complet et sans ambiguïté des échantillons et des méthodes d'échantillonnages selon le substrat étudié.

#### Dans notre étude concernant le fipronil, le critère n°3 a été modifié

- N°3 : des limites de quantification et de détection annoncées dans les études et suffisamment basses (LQ=1 ou 2 ppb ; LD≤0,6 ppb). Lorsque la LD est ≤0,6, une LQ de 2 ppb est acceptée. Lorsque la LD n'est pas précisée, une LQ de 1 ppb est exigée.
- N°4 : une méthode de dosage spécifique du fipronil et de ses métabolites afin de limiter les incertitudes lors de l'évaluation de risques (pas de dosages de résidus totaux),
- N°5 : un poids d'échantillon conforme au poids requis par la validation de la méthode,
- N°6 : des échantillons représentatifs des conditions naturelles environnementales.

### 5.2 Dosages de fipronil et de ses métabolites dans les pollens de tournesol et de maïs Régent TS®

Pollens de fleurs

**Nombre d'études : 9**

**Etudes invalidées : 1**

**Etudes validées et résultats : 8 études validées** mais seules 3 permettent de donner des résultats chiffrés, utilisables dans le cadre de l'évaluation de risques.

Pollens de trappes

**Nombre d'études : 4**

**Etudes invalidées : 1**

**Etudes validées et résultats : 2 études validées** mais 1 seule permet de donner des résultats chiffrés, utilisables dans le cadre de l'évaluation de risques.

*Sur zone traitée Régent TS®*

Type de pollen	Références	Nombre d'échantillons	Teneurs en fipronil (ppb) <sup>3</sup>	Teneurs en métabolites (ppb)		
				MB46513	MB45950	MB46136
Pollen de trappe, Tournesol non traité Régent TS®	M314, Bonmatin, 2004	10	<b>0,02&lt;μ&lt;0,1</b> 0<Med<0,07 0,07<90 <sup>ème</sup> p<0,2 0<10 <sup>ème</sup> p<0,07	0<μ<0,07 0<med<0,07 0<90p<0,07 0<10p<0,07	0<μ<0,07 0<med<0,07 0<90p<0,07 0<10p<0,07	0<μ<0,07 0<med<0,07 0<90p<0,07 0<10p<0,07
Pollen de fleurs de tournesol traité Régent TS®		14	<b>0,03&lt;μ&lt;0,1</b> 0<Méd<0,07 0,07<90 <sup>ème</sup> p<0,2 0<10 <sup>ème</sup> p<0,07	0<μ<0,07 0<med<0,07 0<90p<0,07 0<10p<0,07	0<μ<0,07 0<med<0,07 0<90p<0,07 0<10p<0,07	0<μ<0,07 0<med<0,07 0<90p<0,07 0<10p<0,07
Pollen de fleurs de maïs traité Régent TS®		8	<b>0,24&lt;μ&lt;0,77</b> 0,04<Méd<0,07 0,5<90 <sup>ème</sup> p<0,86 0<10 <sup>ème</sup> p<0,06	0<μ<0,07 0<med<0,07 0<90p<0,07 0<10p<0,07	0<μ<0,07 0<med<0,07 0<90p<0,07 0<10p<0,07	0<μ<0,07 0<med<0,07 0<90p<0,07 0<10p<0,07
Pollen de trappe, tournesol traité Régent TS® (au moins 50%)		7	<b>0,02&lt;μ&lt;0,11</b> 0<Méd<0,07 0,07<90 <sup>ème</sup> p<0,2 0<10 <sup>ème</sup> p<0,07	0<μ<0,07 0<med<0,07 0<90p<0,07 0<10p<0,07	<b>0,02&lt;μ&lt;0,11</b> 0<med<0,07 0,07<90p<0,2 0<10p<0,07	<b>0,01&lt;μ&lt;0,09</b> 0<med<0,07 0,03<90p<0,12 0<10p<0,07
Pollen de trappe, 100% tournesol (sous tunnels)		4	<b>0,74&lt;μ&lt;0,76</b> Méd=0,3 90 <sup>ème</sup> p=1,75 0,08<10 <sup>ème</sup> p<0,12	0<μ<0,07 0<med<0,07 0<90p<0,07 0<10p<0,07	0<μ<0,07 0<med<0,07 0<90p<0,07 0<10p<0,07	<b>0,16&lt;μ&lt;0,24</b> 0,07<med<0,2 0,4=90p 0,02<10p<0,1
Pollen de trappe, maïs traité Régent TS® (au moins 50%)		8	<b>0,28&lt;μ&lt;0,34</b> 0,15<Méd<0,21 90 <sup>ème</sup> p=0,68 0,07<10 <sup>ème</sup> p<0,2	0<μ<0,07 0<med<0,07 0<90p<0,07 0<10p<0,07	<b>0,04&lt;μ&lt;0,14</b> 0,04<med<0,14 0,07<90p<0,2 0<10p<0,07	<b>0&lt;μ&lt;0,08</b> 0<med<0,07 0,02<90p<0,1 0<10p<0,07
Pollen de trappe, 100% maïs (sous tunnels)		2	<b>0,03&lt;μ&lt;0,14</b> 0,03<Méd<0,14 0,06<90 <sup>ème</sup> p<0,19 0<10 <sup>ème</sup> p<0,08	0<μ<0,07 0<med<0,07 0<90p<0,07 0<10p<0,07	0<μ<0,07 0<med<0,07 0<90p<0,07 0<10p<0,07	0<μ<0,07 0<med<0,07 0<90p<0,07 0<10p<0,07
Pollen de fleurs de tournesol	M262, Réf4, Salvi, 2002	2	-	-	-	-
Pollen de fleurs de tournesol	M262, Réf5, Salvi, 2002	2	-	-	-	-
Pollen de trappe sur zone Tournesol, % de pollen de tournesol indéterminé	M118, Goller, 1999	2	-	-	-	-
Pollen de trappe, sous tunnels, variété non précisée	M121, Ayoub, Kieken Part3/3, 2001	1	-	-	-	-

- les données ne nous permettent pas de chiffrer une teneur moyenne d'exposition en raison du manque d'indications concernant la limite de détection.

<sup>3</sup> La valeur moyenne calculée est encadrée par une valeur minimale et une valeur maximale, chacune calculée à partir des valeurs limites de quantification et de détection. Par exemple, si LD = 0,07 ppb et LQ=0,2 ppb, on choisit d'encadrer un échantillon A ayant une teneur en fipronil < LD par les valeurs 0,00 et 0,07 Un échantillon B ayant une teneur en fipronil <LQ aura une valeur comprises entre 0,07 et 0,2. Ces conventions sont utilisées lors de toutes nos estimations. Lorsque la LD n'est pas renseignée, un échantillon compris entre la LD et la LQ prendra une valeur de LQ/2

*Dans un environnement naturel varié*

	Automne 2002 ● (n=9)	Sortie d'hiver 2003 ● (n=24)	Printemps 2003 ●◆ (n=24)	Eté 2003 ◆ ■ (n=17)	Automne 2003 ■ (n=7)
fipronil	2 échantillons <LQ 7 échantillons <LD	16 échantillons <LD 8 échantillons <LQ	24 échantillons <LD	17 échantillons <LD	7 échantillons <LD
MB46136 Dérivé sulfone	9 échantillons <LD	17 échantillons <LD ; 6 échantillons <LQ, 1 échantillon >LQ : 3,3	23 échantillons <LD; 1 échantillon >LQ=3,7	17 échantillons <LD	6 échantillons <LD 1 échantillon <LQ
MB46513 Dérivé désulfanyl	9 échantillons <LD	22 échantillons <LD, 2 échantillons <LQ	<LD= 24	16 échantillons <LD; 1 échantillon >LQ=1,5	7 échantillons <LD

●LD=0,3ppb, LQ=2ppb; ◆LD=0,3ppb; LQ=1ppb; ■LD=0,3 ; LQ=0,5ppb

### 5.3 Dosages de fipronil et de ses métabolites dans le nectar de tournesol

Nombre d'étude : 4

Etude invalidée : 1

Plantes	Références	Motifs d'invalidations (non respect du critère N°)
Nectar de bourdon	M118, Goller, 1999	2

Etudes et résultats validés : 3 études validées mais seules deux permettent d'obtenir un résultat chiffré utilisable dans le cadre de l'évaluation de risques

Plantes	Références	Teneurs moyennes validées De quoi fipronil et/ou métabolites
Tournesol	M262, Ayoub & Kieken, ref 2, 2002,	0,15 ppb
Tournesol	M262, Ayoub & Kieken, ref 3, 2002,	0,15 ppb
Tournesol (jabot butineuses)	M322, Decourtye, Tisseur, 2005	-

- les données ne nous permettent pas de chiffrer une teneur moyenne d'exposition en raison du manque d'information concernant la limite de détection..

### 5.4 Dosages de fipronil dans le miel de tournesol

*Traitement Régent TS®*

Nombre d'étude : 2

Etude invalidée : 0

Etudes et résultats validés : 2 études validées mais aucune ne permet d'obtenir un résultat chiffré utilisable dans le cadre de l'évaluation de risques

Plantes	Références	Teneurs moyennes validées
Tournesol	M118, Goller, 1999	-
Tournesol	M121, Ayoub & Kieken, 1999	-

- les données ne nous permettent pas de chiffrer une teneur moyenne d'exposition.

### Environnement naturel varié

**Nombre d'étude : 1**

**Etude invalidée : 0**

**Etudes et résultats validés : 1 étude validée**

Le miel issu de miellées diverses ne contient pas de résidus fipronil.

## **5.5 Dosages du fipronil dans les sols**

**Nombre d'étude : 0**

## **5.6 Rémanence du fipronil dans les sols et contamination des pollens et nectars**

### **5.6.1 Dans les pollens**

Plantes	Références	Teneurs moyennes validées (ppb)
Tournesol non traité l'année n, mais traité Régent TS® l'année n-1	M297, Sole, A6, 2002	-
Tournesol non traité l'année n, culture traitée Régent TS® l'année n-1	M296, A2 Salvi, 2002	-
Tournesol non traité l'année n, culture traitée Régent TS® l'année n-1	M296, A2 Salvi, 2002	-

- les données ne nous permettent pas de chiffrer une teneur moyenne d'exposition.

### **5.6.2 Dans le nectar**

Plantes	Références	Teneurs moyennes validées (ppb)
Tournesol non traité l'année n, mais traité Régent TS® l'année n-1	M297,A5 Ayoub et kieken, 2002	-
Tournesol non traité l'année n, mais traité Régent TS® l'année n-1	M297,A7 Ayoub et kieken, 2002	-
Tournesol non traité l'année n, culture traitée Régent TS® l'année n-1	M296, A1 Ayoub et kieken, 2002	-

- les données ne nous permettent pas de chiffrer une teneur moyenne d'exposition.

## 6 Données de toxicité

Nous ne disposons que de peu d'études concernant la toxicité du fipronil vis-à-vis des abeilles. La plupart des études sont préliminaires et/ou présentent des problèmes de protocoles ont été relevés. Les études disponibles sont soit des études de toxicité aiguë, soit des études de toxicité chronique ou encore de toxicité sublétales.

### 6.1 Effets létaux du fipronil et de ses dérivés sur les abeilles

#### 6.1.1 Mortalité suite à une intoxication par une seule administration de substance active

##### 6.1.1.1 Résultats disponibles

###### \* Fipronil

Seules 2 études concernant la toxicité aiguë du fipronil sont disponibles. Elles ont été effectuées :

- par la société Bayer Cropsciences (M260)
- par l'Inra d'Avignon (M305)

Les résultats complets sont présentés dans le tableau XIV

**Tableau XIV : Etude de la toxicité du fipronil vis-à-vis des abeilles : mortalité suite à une intoxication aiguë par voie orale ou topique**

Références	Race d'abeilles	Age	Nombre d'abeilles	Conditions de maintenance	Produit testé <i>teneur en ma</i>	Type d'administration	DL50 ng ma/ab
M260 Roper, 2002	<i>Apis mellifera</i>	-	10 abeilles par dose 5 doses (0,02 à 0,01 µg sa/ab)	-	Fipronil 95,4%	Orale ou topique Fipronil dilué dans un mélange solvant/saccharose	4,17(48h, oral) 5,93(48h, topique)
M305 Belzunces, 2003	-	-	-	-	Fipronil	Orale Fipronil dilué dans un mélange solvant/saccharose	30(24h) 10(48h) 5(72h)

- : données non renseignées, ma : matière active

Les études **en blanc** correspondent aux résultats validés décrits dans le paragraphe suivant.

###### \* Métabolites du fipronil

Après un traitement des graines enrobées, le fipronil est métabolisé plus ou moins complètement selon les espèces de plantes. Les principaux métabolites retrouvés dans le tournesol et/ou le maïs sont le MB46513, le MB46136, le MB45950, le RPA 200766 et le RPA 200761. Seuls les métabolites MB46136 et RPA200766 ont fait l'objet d'études de toxicité aiguë (tableau XV)

**Tableau XV : Etude de la toxicité des métabolites du fipronil vis-à-vis des abeilles : mortalité suite à une intoxication aiguë par voie orale**

Références	Race d'abeilles	Age	Nombre d'abeilles	Conditions de maintenance	Produit testé <i>teneur en ma</i>	Type d'administration	DL50 ng /ab
M323, Bocksch, 2004,	<i>Apis mellifera</i>	Jeunes ouvrières	10 abeilles par dose 7 doses *(0,0007 à 0,012 µg sa/ab)	23-25°C Humidité 62-70% Photopériode : 24h nuit	MB46136	Orale Métabolite dilué dans un mélange solvant/saccharose	24h: >12 48h: 12,4 72h: 8,4 96h: 6,4
M324 Pascual	-	-	-	-	RPA200761	Orale Métabolite dilué dans un mélange solvant/saccharose	LC50>10 <sup>6</sup> NOEC= 10 <sup>6</sup>

\* correspond à des concentrations nominales

### 6.1.1.2 Validité des résultats

Les tests de mortalité par une intoxication aiguë (1 seule administration) respectent différentes lignes directives : directive EPA141-1 (M260), directive 170 de l'OEPP et méthode 95 de la commission des essais biologiques (M305). Les études se font donc dans des conditions standardisées définissant les critères de validations demandés par le CST. De ce fait, toutes les études sont validées que se soit pour le fipronil ou pour ses métabolites.

Les DL50 « fipronil » obtenues à 48 heures sont de l'ordre de quelques nanogrammes, elles s'échelonnent de **4,17 à 10 ng** en intoxication orale. Les études concluent à une forte toxicité du fipronil pour les abeilles. On notera également l'évolution de la mortalité au cours du temps, la DL50 orale est plus basse à 72 heures (5ng sa/ab) qu'à 48 heures (10ng sa/ab) et 24 heures (30ng sa/ab), ce qui suggère, selon les auteurs, que des effets importants peuvent encore se manifester plusieurs jours après l'exposition au toxique.

En intoxication topique (48h), la sensibilité des abeilles au fipronil est du même ordre de grandeur : **5,93 ng sa/ab**.

La toxicité du métabolite MB46136 ( DL50<sub>96h</sub>= 6,4 ng sa/ab) semble similaire à celle du fipronil. On note également une évolution de la mortalité au cours du temps, la DL50 est plus basse à 96h (6,4 ng sa/ab) qu'à 48h (12,4 ng sa/ab). Le RPA 200761 présente une toxicité extrêmement faible : NOEC = 10<sup>6</sup> ng sa/ab, la molécule peut être considérée comme non active.

### 6.1.1.3 Commentaires et perspectives

En ce qui concerne le fipronil, les résultats présentés en toxicité aiguë, bien que peu nombreux, sont du même ordre de grandeur que se soit en intoxication orale ou topique. On soulignera également que la **toxicité aiguë orale (48 h) du fipronil est comparable à celle de l'imidaclopride ( 3,7ng) r** Par ailleurs, nous ne disposons que de deux études de toxicité aiguë concernant les métabolites du fipronil (MB46136, RPA200761). On peut regretter l'absence d'études concernant le MB46513 (composé désulfinyl) obtenu lors de la photodégradation du fipronil qui semble être beaucoup plus toxique que le composé parent, en toxicité chronique (M305, Belzunces, 2003). Il est donc

indispensable d'obtenir des données de toxicité pour les métabolites principaux.

## 6.1.2 Mortalité suite à une intoxication chronique (administration réitérée de la substance active)

### 6.1.2.1 Résultats disponibles

Les résultats dont nous disposons sont issus d'expériences menées

- en laboratoire à l'Inra d'Avignon (Belzunces, 2003, M305)
- sous tunnels soit pour le compte des firmes productrices du fipronil (Rhône poulenc : Tisseur et al, 1999, M116, M117 ; Aventis : Giffard, 2001, M119, M120, M170, M202, BASF ; Decourtye et Tisseur, 2005 : M316, Schurr, 2005, M324) soit pour le compte des apiculteurs (GDSA85 : Giffard, 2003, M309). Ces études testent l'effet du fipronil utilisé soit en enrobage de semences (Régent TS®) soit en pulvérisation sur sol (Schuss).

Les différentes études disponibles sont présentées dans les tableaux XVI et XVII.

### Etudes en laboratoires

**Tableau XVI : Etude de la toxicité chronique du fipronil : mortalité suite à l'administration réitérée par voie orale, études en laboratoires.**

Références	Agés abeilles/ période de test	Substance testée	Nombre d'abeilles	Concentrations théoriques testées/durée de contamination	%de mortalité à 10 jours (selon les concentrations)	NOEC, LOEC, DL <sub>50</sub>
M305, Belzunces, 2003	Butineuses /-	Fipronil	3 x 20/doses	0,01 ; 0,1 ; 1 ;/10j	≈15, 25, 24	NOEC<0,01 ppb (8pg sa/ab) <sup>2</sup>
		Désulfinyl-fipronil		0,01 ; 0,1 ; 1 /10j	≈ 32, 47, 46	
		Dérivé sulfone		0,01 ; 0,1 ; 1 ;/10j	>50>50, >50,	
		Dérivé sulfoxyde-amide		0,01 ; 0,1 ; 1 ;/10/10j	≈60, 60, ≈68, ≈72	
		Dérivé sulfide		0,01 ; 0,1 ; 1 ;/10/10j	≈61, ≈62, ≈74, ≈96	

<sup>1</sup> : l'étude a été menée d'après le protocole Suchail et al, 2001, <sup>2</sup> valeur estimée sans tenir compte de la densité de la solution de saccharose à partir des graphes fournis (1'abeille consomme 0,8 mg de solution par jour)\*Uniquement pour les dérivés amide et sulfide,- données non renseignées, ≈ : valeurs estimées d'après graphique.

Les NOEC, LOEC, DL50 sont exprimées en ppb et en pg de substance active/abeille pendant 10 jours.

Les études **en blanc** correspondent aux résultats validés décrits dans le paragraphe suivant.

## Etudes sous tunnels

Tableau XVII : Etude de la toxicité chronique du fipronil : mortalité suite à l'exposition à du tournesol traité fipronil.

Références	Âges abeilles/ période de test	Substance testée/ variété de tournesol	Nombre d'abeilles	alimentation/durée de contamination	Mortalité
M117, M116 Tisseur et al, 1999	Variable/fin juillet	Régent TS® / Rigasol	12000	Nectar, pollen de tournesol X 1 semaine	Pas de différence significative Témoins /Régent TS®
M170, M119- M120, M202 Giffard, 2001	Variable /début Août	Régent TS® ou Schuss/nr	16000-	Nectar, pollen de tournesol X 10 jours	Pas de différence significative Témoins /Régent TS®
M309, Giffard, 2003	variable/ juillet	Régent TS®/Aurasol	20000	Nectar, pollen de tournesol X 21 jours	Pas de différence significative Témoins /Régent®
M322, Decourtye et Tisseur, 2005	variable/ Aout	Régent TS®/Aurasol	15000	Nectar, pollen de tournesol X 10 jours	Pas de différence significative Témoins /Régent®
M324, Schur, 2005	Variable /début Août	Régent TS®/LG5660	6000	Nectar, pollen de tournesol X 10 jours	Pas de différence significative Témoins /Régent®

Les études **en blanc** correspondent aux résultats validés décrits dans le paragraphe suivant.

### 6.1.2.2 Critères de validation

#### Etudes en laboratoires

En l'absence de protocole standardisé pour les études de toxicité chronique et compte tenu de l'utilisation en enrobage de semences du fipronil, le CST a choisi de se rapporter aux mêmes critères de validation que ceux choisis lors de l'évaluation des risques engendrés par l'imidaclopride. Ces critères s'appuient sur les lignes directrices OEPP/EPPO2001 et la méthode CEB 95 pour la validation des protocoles d'études de toxicité chronique.

- N°1** : les abeilles doivent être maintenues dans des conditions se rapprochant des conditions environnementales (pas de ruchers chauffé) : à l'obscurité, en enceinte climatisée à  $25^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$  et à une humidité relative comprise entre 50 et 70%.

- N°2** : l'âge, la race d'abeille doivent être indiqués ainsi que la méthode de collecte, d'échantillonnage et la date d'expérimentation

- N°3** : l'unité expérimentale est une cage de 10 abeilles. Chaque test doit comporter un traitement témoin, un traitement avec chaque dose de substance active à tester (3 concentrations différentes minimum). Chaque modalité de traitement comprend au minimum 3 cages d'abeilles, les tests sont répétés au minimum 3 fois. Le test doit se dérouler sur une durée d'environ 10 jours.

- N°5** : La mortalité constitue la variable dépendante, elle doit être enregistrée régulièrement (au minimum toutes les 24 heures) afin d'évaluer son évolution au cours du temps. Dans les cages témoins, elle doit être inférieure ou égale à 15% de la population initiale d'abeilles après 10 jours de traitement.

## Etudes sous tunnels

En l'absence de protocole standardisé, le CST a choisi de se référer à la méthode C.E.B 129 pour les essais sous tunnels. Les critères de validations retenus sont :

- **N°1** : Les études sont réalisées avec des colonies d'abeilles domestiques élevées dans les zones d'implantation. Les colonies doivent présenter un état général satisfaisant et une absence de symptômes pathologiques visibles.
- **N°2** : Les tunnels doivent être de dimension satisfaisantes, d'environ 7 à 8 m x 17 à 20m avec une hauteur d'environ 3 à 3,5 m.
- **N°3** : Les cultures sont conduites avec un minimum d'intervention phytosanitaire.
- **N°4** : Les colonies doivent être de même origine maternelle excepté dans le cas d'abeilles noires, la population doit être comprise entre 10000 et 20000 abeilles
- **N°5** : La ruche est installée dans le tunnel quelques jours avant l'expérimentation pour permettre à la colonie de s'adapter c'est à dire d'obtenir une stabilité de la mortalité. La mortalité doit être relevée quotidiennement.

### 6.1.2.3 Etudes validées

#### Etudes en laboratoires

L'étude de l'Inra d'Avignon (M305) est un résumé de résultats préliminaires présentés dans le cadre du règlement CE 1221/97/UE pour l'amélioration de la qualité du miel. Nous n'avons donc que très peu d'informations concernant le protocole, un complément d'informations a été demandé à l'auteur, qui malgré de nombreux rappels n'a toujours pas répondu à nos sollicitations. L'auteur précise cependant que la procédure utilisée est celle décrite par Suchail et al, 2001, procédure validée dans le précédent rapport du CST concernant l'imidaclopride. **C'est pourquoi en l'absence de toute autre référence, nous ne pouvons exclure le risque toxicologique et validons cette étude, sous réserve** que les points incertains (notamment en ce qui concerne l'existence de témoins et la variabilité des résultats observés) soient éclaircis et qu'ils répondent aux critères de validation. Cette validation doit donc être confirmée par d'autres études de toxicité chronique.

Dans cette étude, un éventuel défaut de prise de nourriture a préalablement été testé aux concentrations utilisées pour les études de toxicité. Aucun effet sur la consommation n'a été mis en évidence, ce qui suggère que le fipronil ne modifie pas l'appétence de la solution. L'expérience a été répétée trois fois mais les résultats obtenus sont très variables. Pour deux répétitions, la plus faible des concentrations (0,01 µg/l) entraîne une mortalité. Au bout de 10 jours, pour les concentrations de 1 et 0,1 µg/l, la mortalité moyenne obtenue est proche de 25%. Cette mortalité ne commence à apparaître qu'après quelques jours d'exposition. Lors de la troisième répétition, aucune toxicité n'a été démontrée. Selon ces résultats, **la NOEC est donc inférieure à 0,01 µg/L soit 8 pg**

**de fipronil/abeille pour 10 jours.** Néanmoins, pour la troisième répétition aucun effet n'a été observé, ce qui pose la question d'un problème d'expérimentation et/ou d'une variabilité de la sensibilité des abeilles.

En ce qui concerne les métabolites, les dérivés désulfinyl et sulfone présentent une toxicité supérieure à celle du fipronil avec une mortalité avoisinant les 50% après 10 jours d'expérience pour les concentrations de 0,1 et 1 µg/L. La concentration la plus faible (0,01µg/l) induit également une mortalité importante (30%) dans le cas du désulfinyl et 50% dans le cas du sulfone. Les auteurs observent également une mortalité retardée. Enfin les dérivés sulfoxyde-amide et sulfide montrent des toxicités supérieures proche de 60-70%, mais contrairement aux autres métabolites, la mortalité apparaît dès le premier jour et augmente progressivement au cours de l'expérience. Là encore, la troisième répétition ne révèle aucun effet.

Quelque soit le métabolite, la NOEC est également inférieure à 0,01ppb.

### **Etudes sous tunnels**

Les études M117, M322 et M309, respectivement menée par l'ACTA à la demande de Rhône Poulenc , BASF et par Testapi à la demande du GDSA85 testent l'effet du traitement de semences Régent TS® sur les abeilles pendant la floraison du tournesol cultivé sous tunnels. Les protocoles utilisés s'inspirent de la méthode C.E.B n°129 adapté au traitement de semences. Une colonie d'abeilles (environ 12000, origine locale, même mère pour chaque colonie) est placée au sein de chaque tunnel et l'alimentation des abeilles est assurée uniquement par le nectar et le pollen des fleurs de tournesol.

Trois modalités de traitement ont été testées dans l'étude M117: témoins, 50% de tournesols traités et 100% de tournesols traités Régent TS®. La durée d'étude de la mortalité est de 8 jours, ce qui ne peut être réellement interprété comme une étude de toxicité chronique. Néanmoins, les critères de validation sont respectés, cette étude est donc validée.

L'étude M309 compare la modalité 100%Régent TS® à la modalité témoins. Cette étude répond aux critères de validation du CST.

Selon les auteurs, les évolutions des mortalités quotidiennes sont très similaires dans les six tunnels (3 témoins et 3 Régent TS). L'analyse statistique ne montre aucune différence significative entre les tunnels témoins et les tunnels traités (Anova) bien qu'une importante mortalité des abeilles dans l'un des tunnels témoins (>40% au bout de 10 jours) soit observée.

Des dosages de résidus fipronil ont été réalisés sur les abeilles mortes prélevées dans les tunnels traités Régent de l'étude M117 (M118, Goller, 1999). Toutes les abeilles montraient des teneurs en résidus fipronil et métabolites inférieures à la limite de quantification de 2 ppb. L'analyse de nectar de tournesol n'a pu être réalisée en raison d'une trop faible récolte

L'étude M324 teste les effets d'un traitement Régent TS sur différents paramètres biologiques de petites colonies d'abeilles. Malheureusement le nombre d'abeilles utilisées dans ces tests se révèle

inférieur aux critères exigés par le CST. Par ailleurs les échantillons de tournesol non traités des tunnels (contrôles) montrent des teneurs en résidus fipronil et MB46136 importante. Nous ne pouvons exclure un problème de contamination de tunnels « témoins ». Cette étude est donc invalidée

L'étude M170 et son complément M120 ont été menés par la société Testapi, à la demande d'Aventis. Elle vise à déterminer l'effet d'un traitement de sol Schuss® (formulation WG contenant 800g de fipronil/kg) à la dose de 0,250 kg/ha vis-à-vis des abeilles pendant la floraison du tournesol. La mortalité des abeilles est relevée chaque jour et comparée à celle obtenue avec du tournesol traité Régent TS ou non traité. Le protocole utilisé s'inspire également de la méthode C.E.B 129 et est conforme aux critères de validation du CST. Néanmoins, la mortalité des abeilles varie d'une colonie à l'autre, elle est très hétérogène, en particulier dans les tunnels témoins. La mortalité des abeilles témoins est supérieure aux mortalités des abeilles situées dans les tunnels entièrement traités. Les témoins ne sont donc pas fiables, de ce fait cette étude ne peut être validée. Il en est de même pour l'étude M322.

Des prélèvements de pollen et de miel avaient parallèlement été réalisés (M121 et M265). Les résultats de dosages de résidus fipronil indiquaient une teneur inférieure à 2 ppb pour le pollen et 1 ppb pour le miel (limites de quantification).

#### **6.1.2.4 Commentaires et perspectives**

Il n'y a que peu d'études qui cherchent à démontrer ou non un effet toxique du fipronil (4 études) et de ses métabolites (1 étude) lors d'une intoxication chronique. Les résultats obtenus sont donc très partiels et il est difficile de faire une estimation chiffrée de la toxicité. Il semble donc absolument nécessaire de mettre en oeuvre de nouvelles études.

Seule l'étude réalisée en laboratoire (M305, Belzunces) nous a permis de déterminer une NOEC inférieure à 0,01 ppb qui représente, selon notre estimation, **8 pg de fipronil ou de ses métabolites ingéré par abeille sur 10 jours**. Cette valeur sera donc utilisée pour la détermination de la PNEC. Néanmoins, le degré d'incertitude qui pèse sur cette valeur est important, du fait de la variabilité des résultats selon les répétitions.

**On soulignera que cette valeur est du même ordre de grandeur que celle retenue pour la toxicité de l'imidaclopride (Suchail 2001, 12 pg/ab pour 10 jours).**

Parmi les trois études réalisées sous tunnels, deux ont été validées. Elles ne démontrent pas de mortalité accrue des abeilles due au fipronil. Il est cependant impossible de chiffrer une NOEC, aucun dosage de résidus fipronil dans les pollens ou nectar n'ayant été effectué dans les pollens ou nectar de tournesols. Si de nouvelles études sous tunnels devaient être réalisées, le prélèvement des différentes matrices visitées par les abeilles devrait être systématiquement réalisé afin de déterminer les résidus fipronil auxquels elles seraient exposées. Nous avons souligné le problème de la mortalité importante des abeilles spécifique de l'expérimentation sous tunnels. On peut ainsi se poser la question si cette surmortalité des abeilles induite par la vie sous tunnel et sa variabilité dans

de telles conditions ne cachent pas l'impact réel d'un traitement phytosanitaire et plus particulièrement dans le cas de formulation insecticide en enrobage de semences où l'impact des facteurs environnementaux masquerait celui des insecticides.

Le CST note également les efforts réalisés lors de l'étude M309 en plaçant les essais sur cadre nus afin de limiter la présence de résidus de pesticides et/ou de virus qui pourraient biaiser les résultats obtenus ainsi que l'intérêt des prélèvements de nectar à partir du jabot de butineuses lors de l'étude M322.

## **6.2 : Données de toxicité sublétales**

La plupart des études présentées ici se sont déroulées sous tunnels ou en plein champ à partir de tournesol traités Régent TS®. La plupart n'étaient pas suivies d'études analytiques afin de déterminer les doses de fipronil auxquelles sont soumises les abeilles et par là même les NOEC et les LOEC. Les résultats obtenus sont donc avant tout qualitatifs et peu utilisables dans le cadre d'une évaluation de risques.

Nous ne disposons pas de directives officielles pour les évaluations des études sur les effets sublétaux. Par conséquent, nous avons choisi des critères d'évaluation qui reprennent en partie ceux proposés par l'OEPP (2001), *Organisation Européenne pour la Protection des Plantes*, qui se charge de publier des directives proposées par le groupe de travail « Bee Protection » de la commission internationale ICPBR, *International Commission for Plant Bee Relationships*. Ces directives proposent des méthodes d'évaluation de la toxicité et des risques des insecticides pour les abeilles (tests conduits en laboratoire, tests conduits en cage, sous tunnels et en plein champ).

Ces analyses ont porté sur l'évaluation de différents comportements et plus particulièrement sur les activités de butinage.

### **6.2.1 En laboratoire**

#### **6.2.1.1 Résultats disponibles**

Nous ne disposons que de deux études faisant référence à des données de toxicité sublétales de laboratoire (M305, Belzunces, 2003 ; M283, CERFI, 2002). Il s'agit de rapports préliminaires dans le cadre du règlement CE 1221/97/UE pour l'amélioration de la qualité du miel, nous n'avons donc que très peu de renseignements sur les protocoles d'études, les résultats observés etc... Dans l'attente des rapports finals de ces études, nous ne pouvons donc les considérer qu'à titre indicatif, ces études ne peuvent être évaluées.

Les auteurs de l'étude M305 (Inra Avignon) ont testé les effets du fipronil et de ses métabolites (sulfone, sulfure et désulfinyll) sur la thermorégulation soit après une exposition aiguë soit après une exposition chronique. D'après l'auteur, les résultats obtenus après une exposition aiguë n'ont révélé aucun effet significatif sur la thermorégulation de l'abeille. Les résultats concernant l'exposition chronique ne sont actuellement pas disponibles.

L'étude M283 (CERFI) teste les effets du fipronil sur le réflexe d'extension du proboscis par injection de 0,5 µl de fipronil à 0,05 ng/abeille. Les résultats font apparaître une diminution des performances des abeilles traitées au fipronil lors des sessions d'apprentissage mais de meilleures

performances du rappel pour ces mêmes abeilles. Par ailleurs, les abeilles traitées au fipronil ont un seuil de sensibilité au sucre significativement supérieur aux témoins.

## 6.2.2 Sous tunnels

### 6.2.2.1 Résultats disponibles

Au total, l'analyse des effets sublétaux sous tunnels porte sur 7 études (tableau XVIII)

Les études réalisées sous tunnels utilisent des tournesols traités ou non Régent TS® et/ou Schuss. La seule nourriture disponible pour les abeilles est le pollen et le nectar des tournesols présents sous les tunnels. Il n'est cependant pas précisé si les ruches possèdent des réserves de nourriture lors de leur introduction dans les tunnels. Aucun nourrisseur n'est disposé dans les tunnels.

**Tableau XVIII : Etude de la toxicité sublétales du fipronil, expériences sous tunnels**

Références	Mode d'intoxication	Fréquence d'observation et durée du traitement	Effets observés	NOEC, LOEC
M170, M119-M120, M202 Giffard, 2001	Pollen et nectar de tournesol Régent TS® ou Schuss	1 à 3 fois/j x10 j 2 fois sur 10 jours	Butinage Evolution colonie	0.25 kg/ha (Schuss) Régent TS
M117, M116 Tisseur et al, 1999	Pollen et nectar de tournesol Régent TS®	3 fois /j x 8 jours	Butinage Evolution de la colonie	0.6 µl sa/graine de tournesol,
M283, CERFI, 2002	Pollen et nectar de tournesol Régent TS®	10 jours	Butinage Entrée/sorties	7µg/graine de tournesol
M307, ADAM, 2003	Pollen et nectar de tournesol Régent TS®	8 jours	Récolte Toilettage Vol court Chute Oscillations Immobilité Marche Récolte hors zone Activité globale Indice d'intoxication	-
M309, Giffard, 2003	Pollen et nectar de tournesol Régent TS®	15 jours	Présence Nettoyage Signes cliniques Butinage	-
M322, Decourtye et Tisseur, 2005	Pollen et nectar de tournesol Régent TS®	10 jours	Butinage Bilan apicole	NOEC=0,5ppb
M324, Schur, 2005	Pollen et nectar de tournesol Régent TS®	11 jours	Butinage Bilan apicole	-

Les études **en blanc** correspondent aux résultats validés décrits dans le paragraphe suivant. - données non renseignées

Les résultats des études sur les effets sublétaux sous tunnels mettent en évidence, soit des différences significatives de comportement entre les lots d'abeilles traitées et les lots témoins, soit

aucune différence de comportement.

Les études qui montrent des effets significatifs montrent une augmentation de la nourriture stockée, une augmentation du nombre d'abeilles paresseuses (M170, Giffard, 2001), une augmentation du toilettage généralisé (M307, ADAM, 2003) et une augmentation des signes cliniques d'intoxication (abeilles suspendues, abeilles tombantes, paralysie des membres et de l'abdomen)(M309, Giffard, 2003) lors de la pleine floraison du tournesol.

#### 6.2.2.2 Critères de validation

Les critères de validation retenus sont identiques à deux déterminés pour l'étude de la toxicité chronique sous tunnels à savoir :

- **N°1** : Les études sont réalisées avec des colonies d'abeilles domestiques élevées dans les zones d'implantation. Les colonies doivent présenter un état général satisfaisant et une absence de symptômes pathologiques visibles
- **N°2** : Les tunnels doivent être de dimension satisfaisantes, d'environ 7 à 8 m x 17 à 20m avec une hauteur d'environ 3 à 3,5 m.
- **N°3** : Les cultures sont conduites avec un minimum d'intervention phytosanitaire.
- **N°4** : Les colonies doivent être de même origine maternelle excepté le cas de colonies issues d'abeilles noires, la population doit être comprise entre 10000 et 20000 abeilles
- **N°5** : La ruche est installée dans le tunnel quelques jours avant l'expérimentation pour permettre à la colonie de s'adapter c'est-à-dire d'obtenir une stabilité de la mortalité.
- Concernant des effets plus subtils à observer et peut être plus lents à apparaître qu'une simple mortalité un sixième critère a été ajouté :
- **N°6** les études comportementales doivent comporter plusieurs séries d'observations qui doivent être d'une durée significative.

#### 6.2.2.3 Résultats validés

Sur les cinq études disponibles, deux sont conformes aux critères de validation du CST : M117, Tisseur et al, 1999 et M309, Giffard, 2003.

L'étude M309 (Giffard, 2003) ne montre pas de différence significative quant aux seuils d'activité de butinage d'abeilles placées sous tunnels de tournesol traités ou non Régent TS®. A l'inverse, une augmentation des troubles comportementaux est observée dans les tunnels traités Régent TS® mais uniquement pendant la pleine floraison du tournesol. Ces troubles sont essentiellement : des abeilles sur plantes mais hors capitules, des abeilles suspendues et/ou tombantes, des mouvements convulsifs de l'abdomen...Malheureusement cette étude reste qualitative puisque aucun renseignement concernant les doses de fipronil auxquelles sont soumises les abeilles n'est disponible. **Il nous est donc impossible de chiffrer ici la toxicité du fipronil.**

L'étude M117 (Tisseur et al, 1999) ne montre aucun effet du Régent TS® sur le comportement de

butinage des abeilles. L'évolution du nombre de butineuses est comparable dans chaque modalité et suit la floraison du tournesol. Par ailleurs, la surface de couvain et le nombre d'abeilles évoluent de façon identique quelque soit le traitement des tunnels. Nous rappelons qu'une analyse des abeilles mortes de l'étude M117 (étude M118, Goller, 1999) montrait des résidus fipronil inférieurs à la limite de quantification de 2 ppb pour un enrobage à 0,6 µl de fipronil/graine. Néanmoins, cette étude s'est déroulée sous huit jours, ce qui peut constituer un temps d'exposition trop court pour observer des symptômes d'intoxication

L'étude M322 ne montre également aucun effet Régent TS®

Les trois autres études M170 (Giffard, 2001), M283 (CERFI, 2002), M307 (ADAM, 2003), M322 (Decourtye et Tisseur, 2005) et M324 (Schur, 2005) n'ont pu être validées pour les raisons suivantes :

Dans les études M170 (Giffard, 2001) et M322 (Decourtye et Tisseur, 2005), la mortalité observée dans les tunnels témoins est supérieure à celle observée dans les tunnels traités ce qui remet en cause la validité de ces témoins. Les dimensions des tunnels et des colonies de l'étude M307 sont trop faibles par rapport aux critères demandés par les membres du CST. Par ailleurs, en raison de conditions climatiques particulières (canicule), la floraison du tournesol ne s'est déroulée que pendant 8 jours, ce qui a pu interférer sur le processus d'intoxication des abeilles. L'étude M283, entreprise par le CERFI et laboratoire de biologie de l'insecte de l'Université de Toulouse dans le cadre du règlement CE1221/97 visant à l'amélioration de la qualité du miel, est actuellement en cours de réalisation, nous n'avons que très peu d'informations concernant les protocoles et les résultats. Elle n'est donc pas évaluable à l'heure actuelle. L'étude M324 a été réalisée avec des micro-colonies (environ 6000 abeilles), le nombre d'abeilles n'est pas conforme aux critères du CST. Par ailleurs nous ne pouvons pas exclure une possible contamination des témoins.

#### **6.2.2.4 Commentaires et perspectives**

D'après les deux études sous tunnels validées, le traitement de semences Régent TS sur tournesol n'entraîne pas une diminution de l'activité de butinage mais plutôt des signes cliniques d'intoxication (selon les auteurs) comme des abeilles tombantes, des mouvements convulsifs, un nettoyage excessif etc... Néanmoins ces études ne fournissent aucune donnée chiffrée concernant la toxicité du fipronil sur l'abeille. C'est pourquoi, malgré l'intérêt de ces études, aucune ne peut servir de base à une évaluation de risques.

Si les études sous tunnels présentent des inconvénients pour l'étude de la mortalité des abeilles suite à une intoxication chronique, elles présentent des possibilités intéressantes pour analyser les effets de cultures traitées sur le comportement des abeilles et plus particulièrement sur l'activité de butinage. Cependant, lorsque l'unique source de nourriture est représentée par du pollen ou du nectar, les études devraient être systématiquement suivies d'études analytiques permettant de déterminer les doses d'exposition des abeilles au pesticide et à certains de ses métabolites afin de chiffrer l'éventuelle toxicité de la substance dans le but de mener une évaluation de risque.

Par ailleurs, aucune étude pathologique n'a été menée au cours de ces études. La possibilité que les signes soient dus à une(des) maladie(s) de l'abeille doit être envisagée et écartée. C'est pourquoi il

serait souhaitable d'accompagner systématiquement ces études d'une recherche des agents pathogènes vivants pouvant être responsables des troubles observés..

## 6.2.3 Etudes en plein champ

### 6.2.3.1 Résultats disponibles

L'analyse des effets sublétaux en plein champ porte sur 7 études (tableau XIX). Toutes les études ont été menées avec du tournesol traité Régent TS® (M157, Sapène, 2001 ; M117, Tisseur et al, 1999 ; M292, Brouard, 2002 ; M4 Colin et al, 2000 ; M308, Tisseur, 2002) excepté l'étude M132 (Orry, 2000) où le tournesol est traité au Schuss®. Les études se sont principalement intéressées aux activités de butinage, à l'évolution de la colonie et à la constitution des réserves de nourriture.

**Tableau XIX : Etude de la toxicité sublétale du fipronil : étude en plein champ**

Références	Mode d'intoxication	Fréquence d'observation x durée du traitement	Effets observés	Effet Traité/témoin
M157, Sapène, 2001	Tournesol traité Régent TS®/ Tournesol non traité	1 fois /jour x 3 semaines	Récolte tremblement Toilettage Anomalies de retour à la ruche	Dégradation du comportement de récolte /témoin
M117, et M116 Tisseur et al, 1999	Tournesol traité Régent TS®	1 fois/jour x 13 j  4 fois en 13 jours  2 pesées	Activité journalière Surface de couvain et des réserves Estimation de la population Estimation du miel à récolter	Pas d'effet particulier observé
M292, Brouard, 2002	Tournesol traité Régent TS®/ Tournesol non traité	Chaque jour x 1 mois	Chute, immobilité Récolte Toilettage	Augmentation des actes de toilettage Récolte hors zone Diminution de la durée de récolte Peu d'abeilles sur le champ traité/témoin
M4, Colin et al, 2000	Tournesol traité Régent TS® vs non Régent TS® vs Biologique	4 jours	Nombre d'abeilles actives Temps de visite d'1 fleuron Nombre d'envol	Dégradation de l'efficacité de butinage Modification du comportement de récolte/témoin
M308, Tisseur, 2001-2002	Tournesol traité Régent TS	-	Activité de la colonie Activité de butinage Récolte de pollen	Abeilles tremblantes Filtrage Mauvais fonctionnement de la colonie
M306	Tournesol traité Régent TS®	5 fois/mois x 2 mois	Pesées des abeilles Suivi des ruches	-
M132, Orry, 2000	Tournesol traité Schuss®	tous les 9 jours pendant 67 jours	Activité journalière Surface de couvain et des réserves Estimation de la population Estimation du miel à récolter	Diminution du nombre d'abeille par ruche Diminution du butinage lors de la floraison Diminution de la surface de couvain operculé

Les études **en blanc** correspondent aux résultats validés décrits dans le paragraphe suivant.

- données non renseignées

Certaines études montrent des troubles comportementaux pour les abeilles butinant sur tournesol traité Régent TS®. Les principaux troubles observés sont : une dégradation du comportement de récolte (M157, Sapène, 2001 ; M4, Colin, 2000, M308, Tisseur, 2002), une augmentation des actes de toilettage, des vols courts et une immobilité (M292, Brouard, 2002), une augmentation du filtrage (M308, Tisseur, 2002), des perturbations du fonctionnement de la colonie (M308, Tisseur, 2002 ; M132, 2000).

### **6.2.3.2 Critères de validation**

Les études menées en plein champ sur les effets sublétaux sont validées lorsque le protocole de ces études répond aux critères suivants :

N°1 : Les champs doivent être suffisamment grands pour que les abeilles n'exploitent pas d'autres cultures (une colonie d'abeilles exploite en moyenne 6,3 Km<sup>2</sup>).

N°2 : Les colonies doivent être équilibrées (environ 10-12 cadres dont 5-6 de couvain), saines, normales, bien nourries, comprendre plus de 40000 abeilles et placées dans les champs quelques jours avant l'essai.

N°3 : Un minimum de 3 colonies/traitement est nécessaire.

N°4 : Les études comportementales doivent comporter plusieurs séries d'observations qui doivent être régulières, comparables et d'une durée significative.

N°5 : Les parcelles traitées et témoin doivent être dans des conditions de production nectarifère comparables (floraison, microclimat, sol, variété, etc...)

### **6.2.3.3 Résultats validés**

En ce qui concerne une évaluation de la toxicité sublétales du fipronil seul, aucune étude menée en plein champ n'a pu être validée essentiellement en raison des possibilités des abeilles d'aller butiner sur d'autres plants non traités Régent TS® et/ou traités Gaucho®. Les raisons précises de l'invalidation de chaque étude sont :

- M157 (Sapène, 2001): le champs témoin a fleuri après d'autres cultures avoisinantes traitées Régent TS®, de sorte que les observations correspondantes ne peuvent être considérées comme de véritables témoins. Les auteurs rapportent d'ailleurs des symptômes d'intoxication des abeilles sur ces champs témoins et notamment une dégradation de la performance de récolte également observée sur le champ traité. De ce fait, la comparaison effet traitement de semences/témoins ne peut être valable.

- M117 (Tisseur et al, 1999) : il n'existe aucun témoin dans cette étude, l'absence d'effets observés ne peut donc pas être comparé aux résultats obtenus sur un champ sans traitement de semences. Par ailleurs, les ruches sont placées en bordure d'un champ de tournesol traité Régent TS® au sein d'un périmètre d'expérimentation de 1, 5 km avec quelques parcelles de tournesol Régent TS®. Cette région d'expérimentation est riche en maïs,

céréales à paille, colza et tournesol qui peuvent être ou non traités Gaucho® (l'étude date de 1999). La probabilité que des abeilles soient allées visiter ces autres champs n'est pas négligeable. Il est alors difficile de relier les résultats obtenus à la seule responsabilité du Régent TS®. Les auteurs relèvent également le faible potentiel nectarifère des tournesols et un stress hydrique lié aux conditions climatiques. Ce faible potentiel nectarifère a ainsi pu favoriser le butinage sur d'autres parcelles.

- M292 (Brouard, 2002) : dans cette étude, la floraison du champ témoin est concomitante avec la floraison de cultures avoisinantes de maïs Gaucho et de tournesol Régent TS®. On ne peut exclure que les abeilles témoins aient été en contact avec ces insecticides. Il n'existe de même aucune indication précise quant aux distances entre les champs susceptibles d'interférer entre eux que ce soit du tournesol ou toute autre culture traitée. Par ailleurs les variétés de tournesol utilisées sont différentes et un croisement entre l'effet traitement et l'effet génotypique est envisageable, cet écueil est d'autant plus important que l'on ignore tout de la production en nectar respective des 2 variétés. En ce qui concerne les observations comportementales, les expérimentateurs ont éliminé de leurs données les toilettages généralisés ou les immobilités qui sont des indicateurs d'un déficit de butinage. Les items comportementaux observés sont insuffisants car les auteurs ne prennent en compte que le butinage de nectar et n'observent pas le comportement de butinage de pollen. On ne connaît pas, par ailleurs, l'état des capitules sur lesquels les abeilles butinent. Enfin d'un point de vue de l'analyse statistique des données, elle ne semble pas adaptée aux résultats obtenus compte tenu de leur variabilité.

- M4 (Colin et al, 2000) dans cette étude, deux témoins sont utilisés : un champ non traité Régent TS® dans la même région que le champ traité et un autre champ témoin biologique situé dans une autre région que les deux champs précédents. Le champ non traité Régent TS® se situe à proximité d'autres parcelles ayant pu recevoir un traitement phytosanitaire. Quant au champ témoin biologique, même si sa qualité de véritable témoin est admise, il se trouve dans un autre département et les abeilles butinant sur ce champ ne sont en aucun cas dans des conditions nectarifères comparables à celles des champs « traité et non traité ». Par ailleurs, la durée d'expérimentation est courte (4 jours) et aucune indication concernant les colonies d'abeilles n'est apportée.

- M308 (Tisseur, 2001-2002) : cette étude se déroule sur 2 années consécutives et cherche à modéliser l'activité des colonies selon les conditions climatiques. Si des comportements particuliers sont observés lors des deux expérimentations, il est difficile de les relier à la seule présence de Régent TS®, les auteurs ayant retenus parmi les pratiques phytosanitaires l'enrobage de semence à base d'imidaclopride : toutes les parcelles de maïs et de céréales avoisinantes sont traitées Gaucho® ou Texas®.

- M306 : dans cette étude, les ruches sont placées en plaine céréalière bosquet-taillis, les tournesols traités Régent sont à 2,5 km, le champ le plus proche est traité Gaucho. Cette

étude ne permet en aucun cas de conclure à un possible effet du Régent TS®.

- M132 (Orry, 2000) cette étude consiste en une modélisation du comportement de butinage sur un champs traité Schuss®. Le témoin est constitué par l'observation des abeilles avant la floraison du tournesol, la condition traitement est obtenue lors de la floraison. De plus la parcelle a été traitée Gaucho® l'année précédant l'expérimentation et des parcelles de maïs traité Gaucho® se situent dans la zone d'expérimentation. Nous ne pouvons exclure une possible rémanence de cet insecticide. Compte tenu de la rémanence du Gaucho® et de la présence de pollen de maïs dans les trappes à pollen; il n'est pas possible d'affirmer que les effets observés soient uniquement dus au traitement Schuss, les abeilles ayant pu être exposées à l'imidaclopride.

#### **6.2.3.4 Commentaires et perspectives**

Aucune étude menée en plein champ n'a pu être retenue car elles ne sont pas pertinentes pour évaluer la toxicité uniquement d'un traitement Régent TS® sur tournesol vis-à-vis des abeilles. Lors de ces études, les abeilles ont en effet la possibilité de butiner d'autres cultures et en particulier des cultures traitées à l'imidaclopride. Il est donc difficile de relier les effets observés à une intoxication au fipronil seul. En revanche, elles présentent un intérêt certain notamment lorsqu'il s'agit d'évaluer l'impact de plusieurs substances impliquées simultanément dans les troubles des abeilles. Elles seront donc prises en compte dans une autre phase de l'étude multifactorielle.

Par ailleurs, à l'instar des études de toxicité sublétales sous tunnels il serait souhaitable qu'une recherche des agents pathogènes vivants, avec évaluation de leurs effets, soit systématiquement menée sur les abeilles présentant des troubles comportementaux. De la même manière, des prélèvements des différentes matrices visitées par les abeilles devraient être effectués en vue de dosages de résidus fipronil et métabolites afin de déterminer les quantités d'insecticides auxquelles ont été exposées les abeilles.

## **6.3 Récapitulatif concernant les données de toxicité du fipronil et de ses métabolites**

### **6.3.1 Intoxication aiguë (1 seule administration)**

- **Rappel des critères de validation**

Lignes directrices de l'OCDE 213 (intoxication orale) 214 (intoxication topique)

- **Intoxication par voie orale**

#### **Fipronil**

Nombre d'étude : 2

Etudes invalidées : 0

Résultats validés

DL50(48h) : de **4,17 à 10ng** de fipronil/ab

#### **Métabolites :**

Nombre d'étude : 2

Etudes invalidées : 0

Résultats validés

DL50(96h) : de **6,4 ng** de MB46136/ab

DL50(48h) : 10<sup>6</sup> ng de RPA200761/ab

- **Intoxication par voie topique**

Nombre d'étude : 1

Etudes invalidées : 0

Résultats validés

DL50 (48h) : **5,93 ng** de fipronil/ab

### **6.3.2 Intoxication chronique (1 seule administration)**

- **Intoxication suite à l'administration réitérée de fipronil par voie orale**

#### **Etudes en laboratoires**

##### **Rappel des critères de validation**

●N°1 : les abeilles doivent être maintenues dans des conditions se rapprochant des conditions environnementales (pas de ruchers chauffés) : à l'obscurité, en enceinte climatisée à

25°C±2°C et à une humidité relative comprise entre 50 et 70%.

●N°2 : l'âge, la race d'abeille doivent être indiqués ainsi que la méthode de collecte, d'échantillonnage et la date d'expérimentation

●N°3 : l'unité expérimentale est une cage de 10 abeilles. Chaque test doit comporter un traitement témoin, un traitement avec chaque dose de substance active à tester (3 concentrations différentes minimum). Chaque modalité de traitement comprend au minimum 3 cages d'abeilles, les tests sont répétés au minimum 3 fois. Le test doit se dérouler sur une durée d'environ 10 jours.

●N°5 : La mortalité constitue la variable dépendante, elle doit être enregistrée régulièrement (au minimum toutes les 24 heures) afin d'évaluer son évolution au cours du temps. Dans les cages témoins, elle doit être inférieure ou égale à 15% de la population initiale d'abeilles après 10 jours de traitement.

Nombre d'études : 1

Etudes invalidées : 0

Etudes validées et résultats : NOEC<0,01 ppb (8pg sa/ab)

### **Etudes sous tunnels**

#### Rappel des critères de validation

N°1 : Les études sont réalisées avec des colonies d'abeilles domestiques élevées dans les zones d'implantation. Les colonies doivent présenter un état général satisfaisant et une absence de symptômes pathologiques visibles.

N°2 : Les tunnels doivent être de dimension satisfaisantes, d'environ 7 à 8 m x 17 à 20m avec une hauteur d'environ 3 à 3,5 m.

N°3 : Les cultures sont conduites avec un minimum d'intervention phytosanitaire.

N°4 : Les colonies doivent être de même origine maternelle excepté dans le cas d'abeilles noires, la population doit être comprise entre 10000 et 20000 abeilles

N°5 : La ruche est installée dans le tunnel quelques jours avant l'expérimentation pour permettre à la colonie de s'adapter c'est à dire d'obtenir une stabilité de la mortalité. La mortalité doit être relevée quotidiennement.

Nombre d'études : 5

Etudes invalidées : 3

Références	Motifs d'invalidations
M170, Giffard, 2001	Mortalité témoins supérieure à celles des traités.
M322, Decourtye et Tisseur, 2005	Mortalité témoins supérieure à celles des traités.
M324, Schur, 2005	Micro-colonies Contamination possible des tunnels témoins

Etudes validées et résultats :

Références	Résultats
M117, Tisseur et al, 1999	Pas de différence significative Témoins /Régent TS®
M309, Giffard, 2003	Pas de différence significative Témoins /Régent TS®

### 6.3.3 : Données de toxicité sublétales

- En laboratoire

Nombre d'études : 2 non évaluables, absence de renseignements sur les protocoles d'études

- Sous tunnels

#### Rappel des critères de validation

**N°1** : Les études sont réalisées avec des colonies d'abeilles domestiques élevées dans les zones d'implantation. Les colonies doivent présenter un état général satisfaisant et une absence de symptômes pathologiques visibles

**N°2** : Les tunnels doivent être de dimension satisfaisantes, d'environ 7 à 8 m x 17 à 20m avec une hauteur d'environ 3 à 3,5 m.

**N°3** : Les cultures sont conduites avec un minimum d'intervention phytosanitaire.

**N°4** : Les colonies doivent être de même origine maternelle excepté le cas de colonies issues d'abeilles noires, la population doit être comprise entre 10000 et 20000 abeilles

**N°5** : La ruche est installée dans le tunnel quelques jours avant l'expérimentation pour permettre à la colonie de s'adapter c'est-à-dire d'obtenir une stabilité de la mortalité.

Concernant des effets plus subtils à observer et peut être plus lents à apparaître qu'une simple mortalité un sixième critère a été ajouté :

**N°6** les études comportementales doivent comporter plusieurs séries d'observations qui doivent être d'une durée significative.

Nombre d'études : 7

Etudes invalidées : 4

Etude non évaluable : 1 : M283, Cerfi, 2002 : absence de protocole

Références	Motifs d'invalidations
M170, Giffard, 2001	Mortalité témoins supérieure à celles des traités.
M307, Adam, 2003	2, floraison du tournesol sur 8 jours
M322, Decourtye et Tisseur, 2005	Mortalité témoins supérieure à celles des traités.
M324, Schur, 2005	Micro-colonies Contamination possible des tunnels témoins

Etudes validées et résultats :

Références	Résultats
M117, Tisseur et al, 1999	Pas de différence significative Témoins /Régent TS®
M309, Giffard, 2003	Augmentation des troubles comportementaux pendant la floraison Régent TS®

- **Etudes en plein champ**

Rappel des critères de validation

**N°1** : Les champs doivent être suffisamment grands pour que les abeilles n'exploitent pas d'autres cultures (une colonie d'abeilles exploite en moyenne 6,3 Km<sup>2</sup>).

**N°2** : Les colonies doivent être équilibrées (environ 10-12 cadres dont 5-6 de couvain), saines, normales, bien nourries, comprendre plus de 40000 abeilles et placées dans les champs quelques jours avant l'essai.

**N°3** : Un minimum de 3 colonies/traitement est nécessaire.

**N°4** : Les études comportementales doivent comporter plusieurs séries d'observations qui doivent être régulières, comparables et d'une durée significative.

**N°5** : Les parcelles traitées et témoin doivent être dans des conditions de production nectarifère comparables (floraison, microclimat, sol, variété, etc...)

Nombre d'études : 7

Etudes invalidées : 7

Références	Motifs d'invalidations
M157, Sapène, 2001	Possibilité de butinage tournesol traité et non traité Régent TS
M117, et M116 Tisseur et al, 1999	Possibilité de butinage tournesol traité et non traité Régent TS
M292, Brouard, 2002	Possibilité de butinage tournesol traité et non traité Régent TS Observations incomplètes
M4, Colin et al, 2000	Possibilité de butinage tournesol traité et non traité Régent TS Conditions nectarifères différentes pour les témoins et les « traités »
M308, Tisseur, 2001-2002	Possibilité de butinage tournesol traité et non traité Régent TS
M306	Possibilité de butinage tournesol traité et non traité Régent TS
M132, Orry, 2000	Possibilité de butinage tournesol traité et non traité Régent TS



## 7 Cas particulier des « études poussières »

Suite à des problèmes d'intoxication d'abeilles, des études supplémentaires ont été menées afin d'étudier d'une part les rejets potentiels de poussières consécutives aux semis de variétés de tournesol enrobées Régent TS® et leurs impacts éventuels sur les abeilles en conditions de laboratoire ou en plein champ. Les études disponibles sont présentées ici car l'ensemble du CST les considère comme intéressantes bien qu'elles reflètent des conditions d'intoxications très particulières.

### 7.1 Etude des rejets potentiels de poussières sur semoir

Une étude (tableau XX) s'est intéressée aux rejets potentiels de poussières lors du semis de graines de tournesol traités Régent TS®. La méthode de prélèvement a été validée par l'INERIS dans le cadre de la convention 41/2000 concernant les pesticides dans l'air ambiant.

**Tableau XX : Quantité de poussières émises lors du semis de tournesol traité Régent TS® et concentration en fipronil**

Référence	Variétés de Tournesol	Taux moyen de poussière (mg/filtre)		Concentration en fipronil (mg/l)	
		Absence de traitement	Traitement Régent TS®	Absence de traitement	Traitement Régent TS®
M310, Orry, 2004	LG5660	16,4	17	35	275
	Melody	14	26,6	139	2621

Dans cette étude, un prélèvement de référence est effectué en début d'expérience. Le prélèvement d'air correspondant aux semences traitées commence à l'ouverture du sac de semence qui est vidé directement dans les trémies du semoir. La mise en route du semoir s'effectue 5 minutes après le début du prélèvement d'air et pendant 15 minutes.

Les résultats de l'étude concluent à une augmentation nette de la quantité moyenne de poussières émises lors du pelliculage Régent de la variété Melody (+90%). Pour la variété LG5660, le pelliculage Régent TS® n'augmente pas de façon nette la quantité moyenne de poussière.

Les concentrations moyenne dans l'air en fipronil observés pour la variété Melody traitée Régent TS® sont 9,5 fois supérieures à celles notées pour LG 5660 Régent TS®. Une recherche concernant le métabolite sulfone (MB46136) a également été menée. En moyenne pour les deux variétés, la concentration en MB46136 représente 3% de celle observée pour le fipronil.

On soulignera la concentration importante de fipronil qui peut être émise dans l’environnement, en particulier à proximité des ruches, lors du semis de la variété Melody traité Régent TS®, variété largement semée en Midi –Pyrénées. Cette variété est souvent signalée dans le cas d’intoxication d’abeilles en période de semis de tournesol.

## **7.2 Etude de la toxicité des poussières émises lors du semis de tournesol traités Régent TS® vis-à-vis des abeilles**

Dans le cadre du suivi post-homologation du fipronil demandé par la DGAL, deux études commanditées par BASF et réalisées respectivement par le lycée d’enseignement général et technologique de Toulouse-Auzeville et la société Testapi ont tenté d’évaluer les effets d’une exposition des abeilles au fipronil lors d’un semis de tournesol (Melody Régent TS®) (tableau XXI).

**Tableau XXI : Etude d’impact de poussières de semis de tournesol traité Régent TS® sur la mortalité des abeilles :**

Référence	Variétés de Tournesol	Type de test/durée d’exposition/durée d’observation	Nombre d’abeille	Résultats
M311, Giffard, 2004	LG5660 Melody Traitement de référence*	Toxicité aiguë par contact tarsal/24h/72h	20 x3 boites pour chaque modalité de traitement*	Evolution de la mortalité plus importante des abeilles avec la variété Melody
M312, Lycée agricole de Toulouse	Melody	Toxicité aiguë par ingestion et par contact tarsal/96h/96h	Ruchette	Augmentation de la mortalité et des troubles comportementaux après exposition à des plantes soumises aux poussières de semis de tournesol traité Régent TS, chute de l’activité de butinage

\*Pour le traitement de référence, les plantes ont été traitées par pulvérisation au diméthoate

Lors de l’étude M311, les abeilles en cage sont mises en contact avec des feuilles de Tibouchine placées préalablement en bordure de champs lors d’un semis de tournesol Régent TS®. Ces feuilles sont prélevées deux heures et 24 h après le semis. L’analyse statistique des résultats révèle que les poussières de semis de tournesol de la variété Melody peuvent entraîner des effets létaux sur l’abeille lorsque celles-ci sont exposées au feuillage collecté en bordure de champs 2 heures après le semis. La mortalité est moindre lorsque l’exposition a lieu avec des plantes collectées 24 heures après le semis.

Dans l’étude M312, des ruchettes sont placées en cages en bordure d’un champ où est réalisé un semis de tournesol traité Régent TS®. Des plantes pièges (tibouchine, lavande) sont

placées à l'extérieur et à l'intérieur des cages. Après le semis, les plantes extérieures sont placées à l'intérieur des cages. La mortalité, le comportement des abeilles et l'activité de butinage est relevée. Un suivi pathologique des abeilles a été réalisé ainsi qu'une étude de dosages de résidus fipronil dans les plantes, les abeilles, le couvain, l'eau à disposition des abeilles. Les résultats montrent une augmentation de la mortalité des abeilles dès le lendemain de l'exposition. Le butinage, l'activité générale des abeilles sont également altérés que se soit pour les butineuses ou les abeilles d'intérieur (cadre de couvain). L'état sanitaire des ruches est légèrement dégradé.

Les résultats de dosages de résidus fipronil montrent une forte teneur en fipronil (50ppb) dans les abeilles mortes, cette teneur diminue progressivement dans les jours suivant le semis. Les analyses réalisées dans le couvain ou l'eau font éventuellement état de traces de résidus fipronil.

Si ces études présentent un cas particulier d'intoxication et ne peuvent être utilisées dans le cadre de l'évaluation des risques présentés par l'enrobage de semences Régent TS®, elles montrent cependant la possibilité d'intoxication lors de semis de tournesol. Elles soulignent les possibilités d'accidents à l'origine de dépopulation massive transitoire. Par ailleurs, cette exposition particulière pourrait expliquer en partie la contamination par le fipronil et ses métabolites des pelotes de pollens prélevées en sortie d'hiver dans le cadre de l'enquête prospective (M309, Afssa, 2004).

## 8 Evaluation des risques

L'évaluation des risques pour les abeilles liés à l'utilisation du fipronil en enrobage de semences a été faite selon les méthodologies présentées dans le rapport du CST de juillet 2003 intitulé « Imidaclopride utilisé en enrobage de semence (Gaucho®) et troubles des abeilles – Rapport final ».

### 8.1 Evaluation des effets

L'évaluation des dangers sera abordée par l'intermédiaire d'une concentration prévisible sans effet pour les abeilles (PNEC).

Celle-ci sera déterminée à partir des données de toxicité disponibles (toxicité aiguë : DL50 orale et contact 48h après une application unique de fipronil, toxicité chronique : NOEC après administration orale 10 jours en condition de laboratoire) affectées d'un facteur d'incertitude. Ce facteur d'incertitude s'inspirera de ceux proposés dans le Technical Guidance Document mais sera adapté au cas particulier de l'évaluation des risques pour les pollinisateurs.

#### 8.1.1 Evaluation des effets à partir des données de toxicité aiguë suite à une seule administration de fipronil

##### 8.1.1.1 Intoxication par voie orale

La concentration prévisible sans effet du fipronil pour les abeilles est évaluée sur la base des données de toxicité aiguë orale.

La DL50 48h du fipronil est comprise entre **4,17 et 10 ng/abeille** (voir paragraphe 3.1.1.1). La valeur la plus basse de cet intervalle sera utilisée pour le calcul de la concentration prévisible sans effet.

Compte tenu de la nature de la donnée (toxicité aiguë) et du faible nombre d'études disponibles (2), un facteur d'incertitude de 1000 est choisi.

$$\text{PNEC} = 4,17/1000 = 0,047 \text{ ng/ab} = \mathbf{4,17 \text{ pg/ab}}$$

En ce qui concerne les métabolites du fipronil, la DL50 96h du MB46136 est de 6,4 ng. Pour les mêmes raisons que précédemment, un facteur d'incertitude de 1000 est choisi

$$\text{PNEC} = 6,4/1000 = 0,064 \text{ ng/ab} = \mathbf{6,4 \text{ pg/ab}}$$

Le RPA200761 ne présente pas de toxicité

### 8.1.1.2 Intoxication par voie topique

La DL 50 du fipronil par voie topique est de **5,93 ng/ab**. Comme précédemment, un facteur d'incertitude de 1000 est retenu.

$$\text{PNEC} = 5,93/1000 = 0,0593 \text{ ng/ab} = \mathbf{5,93 \text{ pg/ab}}$$

### 8.1.2 Evaluation des effets à partir des données de toxicité chronique suite à l'administration répétée de fipronil par voie orale

La concentration prévisible sans effet est évaluée à partir de la seule donnée quantifiée validée au paragraphe 3.1.2.3 :

$$\text{NOEC 10 jours} < \mathbf{0,01 \text{ } \mu\text{g/l soit} < 8 \text{ pg/ab}}$$

Néanmoins, le degré d'incertitude qui pèse sur cette valeur est important du fait de la variabilité des résultats selon les répétitions. Dans ces conditions un facteur d'incertitude de 100 est retenu.

$$\text{PNEC} = 8/100 < \mathbf{0,08 \text{ pg/ab}}$$

En ce qui concerne les larves, nous ne disposons d'aucune donnée de toxicité et nous ne pouvons déterminer de PNEC.

Pour les métabolites (Desulfinyl-fipronil, sulfone, sulfoxyde-amide et sulfide) la NOEC est identique à celle de la molécule mère, ce qui conduit à des PNEC identiques.

### 8.1.3 Tableau récapitulatif des PNEC

	<b>Variable observée</b>	<b>Facteur d'incertitude</b>	<b>PNEC</b>
Toxicité orale DL50 orale = 4,7 ng/ab DL50 topique = 5,93 ng/ab	Mortalité	1000	Orale = 4,17 pg/ab Topique = 5,93 pg/ab
Toxicité chronique par voie orale Abeille adulte : NOEC = 8 pg/ab	Mortalité	100	<0,08 pg/ab

## **8.2 Evaluation de l'exposition**

La quantité de fipronil susceptible d'entrer dans une colonie est très variable et dépend des types et de la surface des cultures traitées présentes dans son environnement, ainsi que des choix de butinage des ouvrières quant au pollen et/ou nectar récoltés.

### **8.2.1 Le calcul des concentrations prédites d'exposition (PEC)**

Plusieurs modes d'intoxication des abeilles sont envisageables, en fonction de :

- la nourriture récoltée (pollen et / ou nectar) et utilisée (pollen, nectar et / ou miel) par les abeilles,
- la catégorie d'abeille qui manipule et utilise cette nourriture : les larves, les abeilles d'intérieur de moins de 3 semaines (nourrices par exemple) et les abeilles d'extérieur de plus de 3 semaines (butineuses),
- la saison (printemps, été, automne et hiver).

Nous avons donc établi une série d'hypothèses et élaboré plusieurs scénarios d'intoxication. Ceux-ci sont présentés dans le rapport « imidaclopride » de juillet 2003.

### **8.2.2 Cas du pollen**

Le pollen ramené à la ruche par les butineuses est stocké pour une utilisation soit immédiate soit différée. Les conséquences d'une contamination de ce pollen pourraient donc ne se faire sentir qu'au bout de quelques semaines à quelques mois, par exemple à la sortie de l'hivernage. Ne disposant pas à ce jour de données sur l'éventuelle stabilité chimique du fipronil dans le pollen stocké, la première évaluation de risque supposera que le composé est stable.

Nous disposons des quantités de fipronil dosées dans les pollens de fleurs (tournesol et maïs) et dans les pollens de trappe.

Les données concernant le pollen de trappes sont difficilement utilisables pour deux raisons : la pose de trappes à pollen entraîne une perturbation de l'activité de la colonie qui met en œuvre des mécanismes compensatoires afin de combler les pertes de pollens dues à la trappe. Actuellement les trappes à pollen présentent des rendements de 20 à 40%. Du fait de ces mécanismes compensatoires, le pollen de trappe et à fortiori les dosages de fipronil dans le pollen de trappe, ne représentent pas, d'un point de vue quantitatif, ce qui rentre dans la ruche. Par ailleurs, le pollen récolté dans les trappes peut être d'origines florales diverses et de ce fait être plus ou moins contaminé par le fipronil.

Compte tenu de ces biais que peuvent entraîner la prise en compte des dosages de fipronil dans les pollens de trappes, notre évaluation de l'exposition se basera uniquement sur les

résultats des dosages dans le pollen de fleurs.

Il n'en reste pas moins que les trappes gardent leur intérêt pour apprécier le pollen dont disposent les abeilles sur un plan qualitatif.

### Scénario 1 : Nutrition des larves

Les larves sont nourries par les nourrices d'un mélange de pollen, miel et sécrétions des glandes hypopharyngiennes et mandibulaires appelé « pain d'abeilles ». Les larves consomment du pollen principalement aux 4<sup>ème</sup> et 5<sup>ème</sup> jours de leur vie.. Les données disponibles de la littérature estiment à 42 mg la quantité d'aliments ingérés par la larve pendant 5 jours (Haydak, 1968, A171). L'examen du tube digestif d'une larve d'abeille montre qu'elle consomme en moyenne 1,7 mg de pollen de maïs, cette consommation ne couvrant que 5% de ces besoins (Babendreier, communication personnelle). La consommation de pollen de maïs et de tournesol peut donc être considérée comme négligeable en regard de la quantité totale d'aliments ingérés par la larve. La composition en sucres dans la bouillie larvaire varie en fonction de l'âge de la larve, de 18% (ouvrière de moins de 4 jours) et 44% (ouvrière de plus de 4 jours). En considérant que ce sucre provient exclusivement du miel de réserve stocké pendant l'hivers et sachant que le miel est obtenu par évaporation de 60% d'eau du nectar, on peut estimer que le sucre proviendra de la transformation de 3 mg de nectar pour les larves de moins de 4 jours et de 46 mg de nectar pour les larves de plus de 4 jours. Le niveau d'intoxication de la larve sera donc fonction de son âge et du pourcentage de contamination du nectar de tournesol qu'elle ingère (Tableau XXII).

**Tableau XXII : Quantités théoriques de fipronil absorbées par les larves de moins et de plus de 4 jours qui consomment respectivement 3 et 46 mg de nectar de tournesol ou équivalent contaminé**

<b>Concentration de fipronil contenu dans le nectar de tournesol = 0,15 (µg/kg ou ppb)</b>			
		<b>Quantité de fipronil absorbée (pg)</b>	
		Ouvrière <4jours(3 mg)	Ouvrière >4 jours (46 mg)
Pourcentage de nectar de tournesol contaminé au fipronil	100%	0,45	6,9
	80%	0,36	5,52
	60%	0,27	4,14
	40%	0,18	2,76
	20%	0,09	1,38

## Scénario 2 : consommation de pollen par les nourrices

Les abeilles âgées de 1 à 10 jours, ont besoin de pollen pour le développement de leurs glandes hypopharyngiennes et de leurs corps adipeux (Maurizio 1954, A156). Une jeune ouvrière adulte consomme environ 60 mg de pollen au total pendant les 10 premiers jours de sa vie (Pain and Maugenet, 1966, A81). Si le pollen consommé est contaminé, l'abeille risque de s'intoxiquer. Sur cette base, et sur la base des teneurs en fipronil dans les pollens de fleurs et de panicules, les quantités de fipronil consommées par ces abeilles ont été estimées en considérant un régime correspondant à un mélange comportant du pollen contaminé et du pollen non contaminé en différentes proportions (20, 40, 60 et 80 et 100%). A noter que l'hypothèse de 100 % s'applique dans le cas où l'ouvrière ne consomme que du pollen contaminé ; ce qui est probablement assez rare sur le territoire national. C'est pourquoi, en s'inspirant des proportions de pollens de tournesol et maïs récoltés dans les trappes (cf. rapport imidaclopride, paragraphe 3.4.1), nous nous baserons sur des pourcentages de contamination de 90 et 80% pour les pollens de tournesol et de maïs respectivement.

### *Calcul de la PEC en cas d'intoxication par du pollen de tournesol*

Les dosages de fipronil dans le **pollen de fleurs de tournesol** ont conduit à des teneurs de **0,06 ppb**.

Le calcul des quantités de fipronil absorbées par les nourrices qui consomment du pollen de tournesol pendant 10 jours est présenté dans le tableau XXII

**Tableau XXIII : Quantités théoriques de fipronil absorbées par les nourrices qui consomment pendant 10 jours du pollen de tournesol contaminé (60 mg) dans la ruche**

<b>Concentration de fipronil contenu dans le pollen de fleurs de tournesol = 0,06 <math>\mu\text{g}/\text{kg}</math> (ou ppb)</b>		
<b>Pourcentage de pollen de tournesol contaminé par le fipronil</b>		<b>Quantité de fipronil absorbée par les abeilles au bout de 10 jours de consommation (pg)</b>
	90%	3,2
	80 %	2,9
	60 %	2,2
	40 %	1,4
	20 %	0,7

### ***Calcul de la PEC en cas d'intoxication par du pollen de maïs***

Les dosages de fipronil dans le pollen de panicules de maïs ont conduit à des teneurs de 0,5 ppb.

Le calcul des quantités de fipronil absorbées par les nourrices qui consomment du pollen de panicules de maïs pendant 10 jours est présenté dans le tableau XXIII.

**Tableau XXIV: Quantités théoriques de fipronil absorbées par les nourrices qui consomment pendant 10 jours du pollen de maïs (60 mg) contaminé dans la ruche**

<b>Concentrations de fipronil contenu dans le pollen de panicule = 0,5 µg/kg (ou ppb)</b>		
<b>Pourcentage de pollen de maïs contaminé par le fipronil</b>	<b>Quantité de fipronil absorbée par les abeilles au bout de 10 jours de consommation (pg)</b>	
	80 %	24
	60 %	18
	40 %	12
	20 %	6

Nous soulignons que dans certains cas, les pollens de maïs et de tournesol peuvent coexister au sein d'une même ruche.

Par ailleurs, ce scénario ne prend en compte que la consommation de pollen par les nourrices qui consomment également du miel afin de faire face aux dépenses énergétiques liées à leurs activités. Le quantité de contaminant entrant est donc ici sous estimée. Cette consommation de miel est traitée dans le scénario 5.

### **Scénario 3 : les butineuses de pollen**

Les butineuses peuvent se spécialiser dans la récolte d'un seul type de nourriture (pollen ou nectar) ou au contraire récolter les deux types à la fois (nectar et pollen). La proportion de butineuses spécialisées dans la récolte de nectar (58%) est nettement supérieure à la proportion de butineuses spécialisées dans la récolte de pollen (25%) ou des deux types (17%) (Parker 1926, A160 ; Free 1960, A151). Néanmoins, quelle que soit leur spécialité de butinage, les butineuses consomment toutes des produits de la ruche (nectar et/ou miel) afin de stocker l'énergie nécessaire à la réalisation de leur tâche, elles pourront alors s'intoxiquer suivant le scénario 4.

Lorsque les abeilles butineuses récoltent du pollen et / ou du nectar de tournesol, elles se recouvrent le corps de grandes quantités de pollen contribuant ainsi à la pollinisation du tournesol (Parker 1981).

Ce phénomène a également été observé et bien décrit sur maïs « *La langue et les mandibules*

*lèchent et mordent les anthères ce qui a pour résultat de faire adhérer les grains de pollen aux pièces buccales et de les humecter de nectar et de salive. Ainsi une grande partie du pollen est délogée des anthères et adhère aux poils des pattes et du corps. Les poils ramifiés de l'abeille sont favorables à la retenue du pollen sec et poudreux »* (Louveaux 1958, A155).

Les butineuses qui récoltent du pollen et/ou du nectar peuvent donc s'intoxiquer par voie topique et/ou orale en effectuant leur activité de butinage et lors de la confection des pelotes. La butineuse spécialisée dans la récolte du nectar de tournesol peut également s'intoxiquer par voie topique avec le pollen déposé sur ses poils.

Dans le cas d'une intoxication topique, les données de la littérature définissent la quantité de pollen transportée sur les poils et sur les pattes de l'abeille. Une étude a dénombré une moyenne de 1780 grains de pollen de tournesol transporté sur les poils de l'abeille (Parker, 1981, A160) mais le poids d'un grain de pollen n'est pas connu, ce qui ne nous permet pas de déterminer la quantité totale de pollen en contact avec les abeilles. D'autre part, une abeille transporte, par voyage, entre 10 à 30 mg de pollen sous forme de pelotes (Winston, 1987, A85). Nous n'avons cependant aucune indication concernant la biodisponibilité du fipronil dans une pelote de pollen et sa diffusion à travers la cuticule de l'abeille. Dans la mesure où le fipronil est dosé dans le pollen de trappe et la substance active est enfermée dans le grain de pollen, sa biodisponibilité nous semble limitée voire nulle. C'est pourquoi nous n'envisagerons pas d'intoxication par voie topique.

En ce qui concerne une intoxication de type oral, la littérature scientifique réunie sur ce sujet n'a pas permis de déterminer la quantité de pollen qui serait ingérée par l'abeille lors de la confection des pelotes. Cette ingestion paraît négligeable, nous l'estimons arbitrairement à 1% de la quantité de pollen récolté (0,1 à 0,3 mg). Une abeille effectue en moyenne 10 à 15 voyages par jour pour la récolte de pollen (pour revue, Winston, 1990), la quantité totale de pollen ingérée sera alors comprise entre 1 et 4,5 mg.

Enfin, les abeilles mélangeant rarement les origines florales de pollen lors de la confection de pelotes (Free 1963, A149), on peut considérer que l'abeille qui récolte du pollen de tournesol ou maïs traité ingérera un pollen contaminé à 100%.

### ***Cas du pollen de tournesol***

Les dosages de fipronil dans le pollen de fleurs de tournesol ont conduit à des teneurs de 0,06 ppb.

La quantité de fipronil (PEC) à laquelle est exposée une abeille qui ingère 1 à 4,5 mg de pollen contaminé à 100% se situe donc entre **0,06 et 0,27 pg**.

### ***Cas du pollen de maïs***

Les dosages de fipronil (PEC) dans le pollen de panicules de maïs ont conduit à des teneurs de 0,5 ppb.

La quantité de fipronil à laquelle est exposée une abeille qui ingère 1 à 4,5 mg de pollen sous forme de pelote se situe donc entre **0,5 et 2,25 pg**.

### **8.2.3 Cas du nectar et du miel**

Les butineuses qui récoltent le nectar à proximité de la colonie ne consomment généralement pas ce nectar ou seulement une faible part. Elles le rapportent à la ruche et le distribuent à des abeilles "magasinières" qui vont le déposer dans les cellules. Une partie de ce nectar peut être consommée immédiatement par les ouvrières présentes dans la ruche ou ultérieurement, sous forme de nectar ou de miel.

En revanche, lorsque la source de nectar est éloignée de la ruche, la butineuse a besoin, pour les vols allers et/ou retour, de consommer une partie du miel et/ou nectar qu'elle récolte, ce qui pourrait induire des conséquences néfastes, différentes en fonction de la quantité absorbée. Ces paramètres ne sont naturellement pas maîtrisés par les expérimentateurs.

Il existe donc deux principaux types de scénarios « nectar et miel » où les abeilles risquent une intoxication.

#### **Scénario 4 : les butineuses de nectar de tournesol**

Avant de partir sur sa zone de butinage, l'abeille accumule de l'énergie en consommant du nectar ou du miel stocké dans la colonie (Brandstetter *et al.* 1998, A145). Si le nectar consommé est contaminé, l'abeille risque de s'intoxiquer. Le taux de contamination du nectar dépendra du paysage culturel environnant la ruche (présence ou non de champs de tournesol traité ou non Régent).

Si la zone du butinage est éloignée, l'abeille peut consommer une partie du nectar qu'elle vient de récolter pour son vol retour.

Pendant son vol, la butineuse consomme une partie du nectar qu'elle vient de butiner pour couvrir ses dépenses énergétiques de vol, soit 11,5 mg de sucres par heure de vol (Olaert, 1956, A80, Heinrich, 1979, A79). D'un point de vue des dépenses énergétiques résultant de l'activité de butinage, on peut considérer que la majeure partie des dépenses (80%) est due à l'activité de vol pur, les 20% restant étant alloués aux autres activités (déplacements sur le capitule, récolte, toilette). Si l'on considère qu'une abeille consacre environ 10 heures par jour à une activité de vol pur, elle aura donc besoin au total de 115 mg de sucres par jour pour ces dépenses énergétiques de vol auxquels s'ajouteront 23 mg de sucres consommés pour les activités annexes soit un total de 138 mg de sucres par jour (CST, 2004).

Le nectar de tournesol contient en moyenne 40 % de sucres (Bonjean, 1993, A78). Une butineuse doit donc consommer en moyenne 345 mg de nectar pour 12 heures de butinage

quotidien. Si l'abeille consomme du miel, elle aura besoin de 172 mg de miel, sachant que le miel contient 80 % de sucres (White, 1975, A164).

Si la zone de butinage est constituée de champs traités Régent TS, en raison de sa fidélité florale, l'abeille s'intoxiquera avec 100% de nectar contaminé pour son vol retour. Si les champs ne sont pas traités, la contamination sera de 0%. Cependant, si l'on considère l'ensemble des butineuses de la ruche, on pourra trouver des taux intermédiaires de contamination selon le paysage culturel autour de la ruche. En effet, les abeilles spécialisées dans la récolte de nectar de tournesol pourront ou non s'intoxiquer selon le traitement des champs, d'autres abeilles spécialisées dans la récolte de nectar d'autres espèces florales ne consommeront pas de fipronil lors de leur vol retour

Quel que soit le trajet effectué (vol aller ou retour) le niveau d'intoxication de l'ensemble des butineuses sera donc fonction du paysage culturel entourant la ruche et déterminant la proportion de nectar contaminé que l'abeille ingère.

Les dosages de fipronil dans le nectar de tournesol ont conduit à des teneurs de 0,15 ppb (moyenne des valeurs bornes <LD (0 et 0,3)) (Ayoub et Kieken, 2001, M262). Le calcul de la quantité de fipronil éventuellement consommée par une abeille au cours de 12 heures d'activité de butinage figure dans le Tableau XXV.

**Tableau XXV : Quantités théoriques de fipronil contenues dans 345 mg de nectar de tournesol consommé par les butineuses pour 12 heures d'activité de butinage quotidienne**

<b>Concentrations de fipronil contenues dans le nectar = 0,15 (µg/kg ou ppb)</b>		
<b>Pourcentages de nectar de tournesol contaminé par le fipronil</b>		<b>Quantités de fipronil absorbé (pg/ab)</b>
	<b>100%</b>	52
	<b>80 %</b>	41
	<b>60 %</b>	31
	<b>40 %</b>	21
	<b>20 %</b>	10

## **Scénario 5 : Thermorégulation par les abeilles d'intérieur, Consommation du miel de réserve**

Le nectar et le miel stockés dans la ruche seront consommés par les abeilles, généralement âgées de moins de 3 semaines pour combler leurs dépenses énergétiques qui sont fonction de l'activité (thermorégulation, nettoyage des cellules, nourrissage du couvain (cas déjà traité), récolte et emmagasinage du nectar et du pollen). Si ce nectar et ce miel sont contaminés, les abeilles pourront, éventuellement, s'intoxiquer.

La thermorégulation étant l'activité la plus coûteuse d'un point de vue énergétique et l'estimation des dépenses énergétiques liées à toutes les activités prises séparément étant impossible, nous nous intéresserons seulement aux besoins énergétiques d'une abeille pour assurer la régulation de la température qui est dépendante de la température extérieure et donc de la saison.

La quantité de nectar consommé par une ouvrière âgée de moins de trois semaines (nourrice) peut être évaluée en fonction de ses dépenses énergétiques qui sont elles même fonction de son activité (thermorégulation, nettoyage des cellules, nourrissage du couvain, récolte et emmagasinage du nectar et pollen).

La thermorégulation dépend de la température extérieure : lorsque celle-ci est basse les abeilles produisent de la chaleur afin de maintenir une température adéquate au sein de la ruche. En cas de température élevée, les abeilles peuvent également « ventiler » et produire de l'air froid afin de rafraîchir la ruche.

Du point de vue des dépenses énergétiques, la thermogenèse est l'activité la plus coûteuse.

Selon la période de l'année, elle vise soit à assurer une température constante du couvain d'environ 34°C (période printemps-été-automne), soit à maintenir la température de la colonie entre 15°C au centre de l'essaim d'abeilles et à 5°C en périphérie (période hivernale) (Winston 1987, A85). La quantité d'énergie dépensée pour arriver à cette température dépend évidemment, de la température extérieure qui fluctue selon les saisons, les jours et même les moments de la journée.

Jusqu'à la fin de l'hiver, le miel consommé par les abeilles pour assurer la température du couvain est obligatoirement issu du miel stocké. En sortie d'hiver il est progressivement remplacé par du miel des différentes espèces florales apparaissant au printemps puis des espèces disponibles au cours de la saison apicole. A l'automne, les nourrices puisent à nouveau dans le miel de réserves nouvellement stocké.

Durant l'hiver, le miel consommé par les abeilles pour assurer une température viable à l'intérieur de la ruche est du miel de réserve, constitué à partir du nectar de la dernière espèce florale butinée. Ainsi, selon les régions et les pratiques apicoles (transhumance), le miel de tournesol peut représenter jusqu'à 80% du miel de réserve. Si ce miel de tournesol contient du

fipronil, les abeilles risquent de s'intoxiquer et le niveau d'intoxication sera fonction de la proportion de miel contaminé qu'elle ingère. Le niveau de contamination du miel de réserve dépend donc à la fois de la dernière essence florale butinée (tournesol, colza, etc..) et de la proportion de champs traités ou non Régent si cette dernière espèce florale est du tournesol.

Il est établi qu'une colonie d'abeilles consomme en général 60 à 80 kg de miel par an (Moritz et Southwick 1992 ; Rosov 1944 ; Seeley 1985). Dans les pays tempérés et pendant l'automne, la colonie, composée généralement de 20 000 abeilles (Winston 1989, A85), consomme 8 à 16 kg de miel pour la thermogénèse (Free, 1977, A151) tandis qu'elle en consommera 19 à 25 kg pendant l'hivers (température de - 4°C à + 7°C) (Farrar 1952, 1960, A148 ; Dyce and Morse 1960, A146 Johansson and Johansson 1969, A154).

Compte tenu de la consommation plus importante de miel durant l'hiver, nous baserons nos estimations de PEC sur cette période qui représente, à notre sens, le pire cas.

Le miel de tournesol représente 0 à 80 % du miel de réserve selon les régions. Durant la période hivernale, l'abeille consommera donc, selon les pourcentages de miel de tournesol constituant le miel de réserve (20, 40, 60 et 80%) de 0,2 à 0,8 g de miel de tournesol pour assurer le maintien de la température, ce qui correspond à 0,5 à 2 g de nectar de tournesol. La quantité de fipronil absorbée par les abeilles sera alors fonction du pourcentage de miel de tournesol contaminé stocké dans le corps de ruche (par exemple 20, 40, 60, 80, 100%).

Ne disposant pas à ce jour de données sur l'éventuelle stabilité chimique du fipronil lors de la transformation du nectar en miel et dans le miel stocké, la première évaluation de risque supposera le composé stable.

Le Tableau XXVI indique, les quantités de fipronil absorbées par les abeilles adultes qui consomment 0,2 à 0,8 g de miel de tournesol (provenant de la transformation de 0,5 à 2 g de nectar de tournesol) afin d'assurer une température de 15°C au centre de la ruche et de 5°C à la périphérie.

Tableau XXVI : Quantité théorique de fipronil absorbée par les abeilles adultes pour assurer le maintien de la température au cours de la période hivernale (mi-octobre-fin mars)

Concentrations de fipronil contenu dans le nectar ou équivalent = 0,15 (µg/kg ou ppb)					
Pourcentages de nectar de tournesol contaminé par le fipronil		Quantités de fipronil absorbé par les adultes (pg/abeille)			
		Quantité de nectar absorbée (g)			
		0,5	1	1,5	2
		100%	75	150	225
80%	60	120	180	240	
60%	45	90	135	180	
40%	30	60	90	120	
20%	15	30	45	60	

### 8.3 Evaluation des risques

Les risques sont évalués par le rapport entre la concentration d'exposition (PEC) et la concentration prévisible sans effet pour les abeilles (PNEC). **Un rapport "PEC/PNEC" supérieur à 1 traduira un risque préoccupant pour les abeilles tandis qu'un rapport inférieur à 1 pourra être considéré comme indiquant un risque non préoccupant.**

Les calculs des différents rapports correspondant aux différents niveaux d'exposition sont présentés sous forme de tableaux. La procédure classiquement adoptée lorsqu'une évaluation des risques est réalisée pour une substance chimique, qu'elle soit nouvelle (Directive 67/548/CE) ou existante (règlement 793/93), est d'effectuer un premier calcul de risque assez rudimentaire. Si un risque supérieur à 1 est mis en évidence, le rapport doit être affiné, soit en affinant la partie "exposition" c'est à dire la PEC, soit en affinant la partie "effets", c'est à dire la PNEC.

Dans notre cas, le calcul des PEC ne peut pas être affiné en l'état actuel des connaissances, car les scénarios d'exposition utilisent toutes les données scientifiques qui ont été publiées dans la littérature scientifique et technique à ce jour.

La procédure classique d'affinage des PNEC suivie pour l'évaluation des risques présentés par une substance chimique, est la suivante. Dans le cas général, les seules données disponibles sont les données correspondant à des essais de toxicité aiguë. La PNEC est alors calculée sur la base de ces données en utilisant un facteur d'incertitude élevé. Si un rapport PEC/PNEC préoccupant est mis en évidence, des essais de toxicité chronique vont être exigés par les autorités et réalisés par les déclarants de la substance. Une nouvelle PNEC va être calculée sur

la base de ces nouveaux résultats d'essais, en utilisant un facteur d'incertitude moins élevé que celui appliqué aux essais de toxicité aiguë puisque l'exposition est plus proche de la réalité que celle obtenue par administration chronique. Si le rapport PEC/PNEC reste préoccupant, on demande alors des essais se rapprochant de plus en plus des conditions naturelles, par exemple des essais sublétaux, pour lesquels le facteur d'incertitude utilisé pourra être moins important. Un nouveau rapport va être calculé. La procédure va s'arrêter lorsque l'affinage de la PNEC sera arrivé à son terme, c'est à dire lorsqu'elle sera basée sur les essais correspondant le plus aux conditions réelles environnementales, généralement les essais en plein champ dans le cas des abeilles butineuses. Pour les abeilles d'intérieur qui ne sortent pas de la ruche, les études de plein champ portant sur le comportement de butinage ne constituent pas les conditions environnementales les plus représentatives, l'affinage s'arrêtera aux études en laboratoires testant les effets sublétaux engendrés par l'administration répétée de fipronil.

Dans le cas de l'évaluation des risques présentés par le fipronil pour les abeilles, les estimations de risques vont être présentées comme si cette procédure d'affinage des PNEC avait été suivie. Chaque tableau doit donc être lu du haut vers le bas, la dernière ligne pour un scénario donné figurant en grisé et correspondant à l'affinage maximal de la PNEC pouvant être obtenu avec les données disponibles. Les commentaires sus cités par les valeurs de risques calculés seront basés sur cet affinage maximal de la PNEC.

Dans les tableaux, les valeurs de risques ont été délibérément arrondies à une décimale pour des valeurs inférieures à 5 et à l'unité pour des valeurs supérieures.

### **8.3.1 Scénario 1 : consommation de pollen par les larves**

L'évaluation de risques présentés par le fipronil pour les larves ne peut être développée en raison de l'absence de données de toxicité disponibles rendant impossible le calcul d'une PNEC et a fortiori du rapport PEC/PNEC.

### 8.3.2 Scénario 2 : consommation de pollen par les nourrices

Tableau XXVII: Calcul des risques correspondant au scénario d'exposition n°2 pour le pollen de tournesol  
(intoxication pendant 10 jours)

Scénario 2 : consommation de pollen par les nourrices					
<i>Cas du pollen de tournesol</i>					
Rapport PEC/PNEC	PEC Concentrations d'exposition en fonction de la quantité de fipronil contenue dans le pollen de fleurs contaminé (pg)				
	(20% contamination)	(40% contamination)	(60% contamination)	(80 % contamination)	(90 % contamination)
PNEC (pg)	0,7	1,4	2,2	2,9	3,2
A partir des données de toxicité aiguë par voie orale					
4,17	0,2	0,3	0,5	0,7	0,8
A partir des données de toxicité chronique par voie orale					
0,08	8,7	17	35	36	40

Un rapport PEC/PNEC supérieur à 1 est observé pour les taux de contamination de 20 à 90% dans le cas de l'évaluation de la PNEC à partir des données de toxicité chronique par voie orale. Lorsque ces mêmes ratios sont calculés à partir des données de toxicité aiguë par voie orale, ceux-ci sont systématiquement inférieur à 1.

Ces évaluations pourraient être affinées en améliorant d'une part l'évaluation des dangers au moyen d'études sous tunnel ou plein champ prenant en compte des paramètres internes à la ruche comme par exemple des effets sur le développement du couvain et d'autre part, la PEC en réalisant des dosages de fipronil dans le pain d'abeilles ou pour le moins en étudiant la stabilité chimiques du fipronil dans le pollen stocké dans la ruche et transformé en pain d'abeille.

Tableau XXVIII: 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 de fipronil contenue dans le pollen contaminé (pg)			
	(20 % pollen de panicules)	(40 % pollen de panicules)	(60 % pollen de panicules)	(80 % pollen de panicules)
PNEC (pg)	6	12	18	24
A partir des données de toxicité aiguë par voie orale				
4,17	1,5	3	4,5	6
A partir des données de toxicité chronique par voie orale				
0,08	75	150	225	300

Comme précédemment, le rapport PEC/PNEC est supérieur à 1 pour des taux de

contamination de 20 à 80% de pollen indiquant un risque pour les abeilles et ce lorsque la PNEC est évaluée à partir des données de toxicité aiguë ou chronique par voie orale.

Les remarques précédentes concernant l'affinage du rapport PEC/PNEC sont valables pour le pollen de maïs.

### 8.3.3 Scénario 3 : les butineuses de pollens : intoxication par voie orale

Tableau XXIX: Calcul des risques correspondant au scénario d'exposition n°3 pour le pollen de tournesol (intoxication pendant 1 journée de butinage)

Scénario 3 : les butineuses de pollen		
<i>Cas du pollen de tournesol</i>		
Rapport PEC/PNEC	PEC	
	Concentrations d'exposition en fonction de la quantité de fipronil contenue dans le pollen contaminé (pg)	
PNEC (pg)	10 mg de pollen ingéré	45 mg de pollen ingéré
	0,06	0,27
A partir des données de toxicité aiguë par voie orale		
4,17	0,01	0,06
A partir des données de toxicité chronique par voie orale		
0,08	0,75	3,4

Tableau XXX: 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 de fipronil contenue dans le pollen contaminé (pg)	
PNEC (pg)	10 mg de pollen ingéré	45 mg de pollen ingéré
	0,5	2,25
A partir des données de toxicité aiguë par voie orale		
4,17	0,2	0,5
A partir des données de toxicité chronique par voie orale		
0,08	6,25	28

Dans le cas des butineuses de pollen, le rapport PEC/PNEC n'est supérieur à 1 que dans le cas d'une ingestion de 45 mg de pollen de tournesol d'une PNEC évaluée à partir des données de toxicité chronique par voie orale. En revanche, dans le cas des butineuses de maïs, ce rapport est supérieur à 1 quel que soit le taux d'ingestion de pollen dès lors que l'évaluation est réalisée à partir de données de toxicité chronique. A noter que comme pour l'imidaclopride, en absence de données scientifiques, le pourcentage de pollen ingéré repose uniquement sur une estimation de la part des membres du CST et qu'en conséquence les rapports obtenus sont

à relativiser.

Un affinage du rapport PEC/PNEC est possible, en précisant l'évaluation de la toxicité de la molécule et en déterminant la quantité de pollen ingérée par les butineuses lors de la confection des pelotes.

Le calcul des risques engendrés par une intoxication topique de fipronil lors de la confection de pelotes par les butineuses n'a pas été développé compte tenu de son improbabilité.

### 8.3.4 Scénario 4 : consommation de nectar par les butineuses

Tableau XXXI : Calcul des risques correspondant au scénario d'exposition n°4 pour le nectar de tournesol (intoxication pendant 1 journée de butinage)

Scénario 4 : les butineuses de nectar de tournesol					
PEC/PNEC	PEC Concentrations d'exposition en fonction du % de nectar consommé contaminé par le fipronil (pg)				
PNEC (pg)	(20%)	(40 %)	(60 %)	(80 %)	(100 %)
	10	21	31	41	52
A partir des données de toxicité aiguë par voie orale					
4,17	2,4	5	7,5	9	12
A partir des données de toxicité chronique par voie orale <sup>4</sup>					
0,08	125	262	388	513	650

Un ratio supérieur à 1 est mis en évidence lorsque 20% du nectar consommé est contaminé par le fipronil indiquant un risque pour les abeilles. Le rapport PEC/PNEC devient supérieur à 1 dès lors que 8% du nectar consommé est contaminé.

Un affinage du rapport PEC/PNEC est possible par l'obtention de données validées de toxicité sublétales qui devraient être menées parallèlement à des analyses de résidus. Dans le cas du scénario 4, la quantité de fipronil contenue dans le nectar de tournesol doit être confirmée, la valeur utilisée dans le scénario ne repose que sur 4 échantillons d'une seule étude et correspond à un pire cas où des résidus inférieurs à la limite de détection sont considérés comme présents.

### 8.3.5 Scénario 5 : les abeilles d'intérieur

Tableau XXXII : Calcul des risques correspondant au scénario d'exposition n°5 pour le miel de tournesol

Scénario 5 : les abeilles d'intérieur, régulation de la température pendant la période hivernale										
<i>Cas des abeilles adultes</i>										
Rapport PEC/PNEC	PEC (pg)									
	Concentrations d'exposition en fonction de la quantité de miel absorbé et de la proportion de miel contaminé ou équivalent (1 à 2 g de nectar)									
PNEC(pg)	0,2 g de miel (0,5g de nectar)					0,8g de miel (2g de nectar)				
	20%	40%	60%	80%	100%	20%	40%	60%	80%	100%
	15	30	45	60	75	60	120	180	240	300
A partir des données de toxicité aiguë par voie orale										
<b>4,17</b>	3,6	8	11	15	18	15	29	43	58	72
A partir des données de toxicité chronique de laboratoire par voie orale										
<b>0,08</b>	188	375	563	750	938	750	1500	2250	3000	3750

L'évaluation des risques pour les abeilles d'intérieurs assurant la thermorégulation conduit à des rapports préoccupants. On rappellera que les données de toxicité chronique de laboratoire sont considérées comme les plus représentatives des conditions environnementales pour les abeilles d'intérieur qui ne sortent pas de la ruche. Le rapport PEC/PNEC pourrait être affiné par l'obtention de données de dosages de résidus fipronil, la PEC étant calculée à partir d'une seule étude.

## 9 Conclusion

L'évaluation des risques pour les abeilles présentés par l'enrobage Régent TS® de semences a été menée à partir des scénarios originaux développés dans le cas de l'étude enrobage imidaclopride précédemment réalisée par le CST. Dans l'état actuel des connaissances, et compte tenu des données actuellement disponibles 4 scénarios ont pu permettre cette évaluation :

- Consommation de pollen par les nourrices et
- Consommation de pollen par les butineuses
- Consommation de nectar par les butineuses
- Thermorégulation par les abeilles d'intérieur, consommation du miel de réserve.

Un scénario n'a pu être le support de cette évaluation de risques par manque de données de toxicité et d'exposition :

:

- Nutrition des larves,

Les évaluations réalisées reposent sur les données de concentration en fipronil dans les pollens de fleur de tournesol et de panicule de maïs et de nectar de tournesol, validées par le CST (cf.8.2.2). Il est important de noter que, dans le cas du tournesol, ces concentrations dans les pollens de fleurs ou de panicules sont inférieures à celles observées dans des pollens de trappe et ceci sans qu'il ne soit possible aujourd'hui d'apporter d'explication.

Compte tenu des justifications apportées dans le cas de l'étude imidaclopride précédemment réalisée par le CST (perturbation de l'activité de la colonie suite à la pose de trappe à pollen, pollen d'origine florale diverse) et en l'absence d'information complémentaire conduisant à une mise en cause de celles-ci, il a été décidé de baser les évaluations sur les teneurs dans les fleurs même si ces teneurs peuvent conduire éventuellement à une sous-estimation de l'exposition des abeilles. De plus, l'évaluation a été menée sur la base de l'exposition à la matrice active fipronil, or certains de ses métabolites (desulfinyl, sulfone, sulfoxyde amide et sulfide) présentent une toxicité chronique comparable à celle de la molécule mère. Une sous estimation de l'exposition est ici encore possible.

Dans le cadre d'une consommation de nectar (scénarios 4 et 5), le rapport PEC/PNEC a été calculé à partir d'une seule étude validée faisant état de teneurs en résidus fipronil inférieures à la LD, ce qui d'une manière quantitative suggère des teneurs en résidus fipronil comprises entre 0 et 0,3 ppb. Afin d'évaluer de manière quantitative le risque présenté par une

consommation de nectar, les experts du CST ont choisi de considérer la moyenne de ces deux valeurs extrême comme le pire cas. Cependant, une sous estimation comme une sur estimation du risque est possible dans ce cas.

Enfin, il est important de rappeler que dans le cas spécifique de cette spécialité (Regent TS®) des observations de terrain (expérimentations et accidents) ont mis en évidence les effets néfastes des poussières émises lors des semis. Ces effets n'ont pas été pris en compte dans l'évaluation et des scénarios reflétant ce type d'exposition n'ont pu être à ce jour développés.

**En conclusion, en l'état actuel de nos connaissances, selon les scénarios développés pour évaluer l'exposition et en appliquant les facteurs d'incertitude choisis pour évaluer les dangers, les rapports PEC/PNEC obtenus peuvent paraître préoccupants (tableau XXXI) et ne permettent pas d'exclure des risques inacceptables.**

Cependant cette évaluation est basée sur un faible nombre de données d'exposition et de toxicologie.

Afin de pouvoir conclure il est absolument nécessaire :

- 1) d'acquérir rapidement des connaissances supplémentaires concernant la toxicité chronique du fipronil et de ses métabolites (avec contrôle des concentrations des solutions de traitement) vis-à-vis des abeilles de différents âges et plus particulièrement pour les larves ;
- 2) d'acquérir des données de dosages de résidus de fipronil et de ces métabolites dans les différentes matrices visitées par les abeilles et en particulier dans le nectar.
- 3) d'améliorer les méthodes d'analyse afin d'abaisser de manière significative les seuils de détection et de quantification

**Tableau XXXIII: Récapitulatif des résultats du rapport PEC/PNEC déterminé pour les différents scénarios**

Scénario	Rapport PEC/PNEC selon le pourcentage de contamination des produits consommés		Commentaires relatifs aux scénarios
	A partir d' une exposition à du Tournesol traité Regent TS	A partir d' une exposition à du Maïs traité Regent TS	
Scénario 1 : consommation de « bouillie larvaire » par les larves	Rapport PEC/PNEC non déterminé		<b>Absence de données :</b> - de toxicité chez les larves - de dosages de résidus dans la gelée royale et la « bouillie larvaire » - sur la stabilité du fipronil au cours du stockage dans la ruche
Scénario 2 : consommation de pollen par les nourrices	0,2 à 40	1,5 à 300	<b>Absence de données :</b> - sur la stabilité du fipronil 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	0,01 à 3,4	0,2 à 28	<b>Absence de données :</b> - sur la proportion de pollen ingéré lors de la confection de pelotes - sur la biodisponibilité du fipronil dans un grain de pollen (intoxication topique)
Scénario 4 : consommation de nectar par les butineuses	2,4 à 650	maïs = plante non nectarifère	<b>Absence de données :</b> - de dosages de résidus dans le miel stocké à la ruche Scénario reposant sur une seule analyse de résidus dans le nectar
Scénario 5 : consommation de miel par les abeilles d' intérieur	3,6 à 3750	maïs = plante non nectarifère	<b>Absence de données :</b> -de dosages de fipronil dans le miel -sur la stabilité de fipronil dans le miel lors de son stockage dans la ruche Scénario reposant sur une seule analyse de résidus dans le nectar

# **ANNEXES**

## Annexe 1 : Bibliographie

M49 Holmsen, J.D., The systemicity of Fipronil. Rhône-Poulenc Agro, Research Triangle Park, USA, 1998, 5.

M116 Roper, M., RÉGENT TS (500g de fipronil/L). Effet du traitement de semences de tournesol vis-à-vis des abeilles. Rhône-Poulenc Agro France, Direction Ethique, Environnement et Homologation, Lyon, 2000, 15.

M118 Goller, G., Assay of Fipronil and three of its metabolites (MB46513, MB45950 and MB46136) in floral products and bees. ADME Bioanalyses, 1999, 43.

M119 Roper, M., RÉGENT TS (FS: 500g de fipronil/L). Complément. Effet du traitement de semences de tournesol vis à vis de abeilles. Aventis CropScience France, Direction Ethique, Environnement et Homologation, 2001, 10.

M121 Ayoub, S., Kieken, J.-L., Fipronil and metabolites. Residues in pollen, nectar and honey of sunflower. Aventis CropScience, 2001, 55.

M128 Rivière, A., Rapports de la Commission concernant l'Imidaclopride, le Fipronil et leurs utilisations. Commission d'Etude de la Toxicité des Produits Antiparasitaires, 2002, 20+29.

M202 Roper, M., Schuss (WG: 800g de fipronil/kg). Effet du traitement de sol avant semis de tournesol vis-à-vis des abeilles. Aventis Crop Science France, Direction Ethique, Environnement et Homologation, 2001, 21.

M203 Yenne, S.P., Stonne, J.L., Metabolic fate and distribution of 14C-Fipronil (M&B46030) in corn (171 Nature of the Residue - Plants). Rhône-Poulenc Ag Company, USA, 1994, 282.

M204 Yenne, S.P., Jesudason, P., Metabolic fate and distribution of 14C-Fipronil in corn. Rhône-Poulenc Ag Company, USA, 1995, 345.

M205 Yenne, S.P., Stonne, J.L., 14C-Fipronil: Distribution and metabolic fate in cotton (*Gossypium hirsutum* L.). Rhône-Poulenc Ag Company, USA, 1995, 349.

M206 Oliver, R.G., Humphreys, S.P., Lowden, P., Fipronil-14C: Metabolism in sugarbeet (Final report). Rhône-Poulenc Agriculture Limited, Angleterre, 1993, 113.

M207 Unsworth, R.H., [14C]-Fipronil: Metabolism in wheat following application as a seed treatment. Aventis CropScience UK Ltd, Angleterre, 2001, 116.

M208 Bellett, J., French, N.P., Humphreys, S.P., Maycey, P.A., Savage, E.A., Insecticides: Fipronil: Metabolism in sunflowers. Rhône-Poulenc Agriculture Limited, Angleterre, 1993, 118.

M260 Roper, M., Fipronil, Résumé du dossier toxicologique. Bayer CropScience, 2002, 85.

M262 Roper, M., Régent TS, analyse de résidus dans le nectar et le pollen de tournesol. Bayer CropScience, 2002, 34.

M264 Ayoub, S., Kieken, J.-L., Fipronil and metabolites, residues in pollen, nectar and

honey of sunflower. Bayer CropScience, Lyon, 2001, 57.

M265 Ayoub, S., Kieken, J.-L., Fipronil and metabolites, residues in pollen, nectar and honey of sunflower. Bayer CropScience, 2001, 58.

M267 Roper, M., Schuss (WG : 800g de fipronil/kg; Effet du traitement de sol avant semis de tournesol vis à vis des abeilles. Aventis CropScience France, 2001, 1-21.

M268 Boussemart, M.J., Wicks, R.J., Fipronil: terrestrial soil dissipation study in Europe (final report). Rhone Poulenc, 1995, 821.

M269 Corgier, M., Plewa, A.P., 14C-MB 46030 Hydrolysis at 25°C (fipronil). rhone poulenc, Lyon, 1992, 1-71.

M270 Corgier, M., Plewa, A.P., 14C-MB 46030 aqueous photolysis. Rhone-Poulenc, 1992, 1-118.

M271 Boinay, P., Determination of the direct phototransformation of fipronil in water. Rhone-Poulenc, 1997, 41.

M272 Boussemart, M.J., Wicks, R.J., Fipronil: terrestrial soil dissipation study in Europe (final report). Rhone Poulenc, 1995, 821.

M283 CERFI, Evaluation des effets du fipronil sur la biologie de l'abeille. IUFM, Laboratoire de Neurobiologie de l'Insecte, Université Paul Sabatier, 2002, 8.

M296 Orry, S., Livre d'études 1 : analyse de résidus de fipronil et de ses métabolites dans les produits du tournesol *Helianthus annuus*. Bayer CropScience, 2002, 42+35+42+35.

M296 Orry, S., Livre d'études 1 : analyse de résidus de fipronil et de ses métabolites dans les produits du tournesol *Helianthus annuus*. Bayer CropScience, 2002, 42+35+42+35.

M297 Orry, S., Livre d'études 2 : analyse de résidus de fipronil et de ses métabolites dans les produits du tournesol *Helianthus annuus*. Bayer CropScience, 2002, 43+34+43+34.

M298 Orry, S., Rapport d'études : analyse de résidus de fipronil et de ses métabolites dans les produits du tournesol *Helianthus annuus*. Bayer CropScience, 2002, 8.

M302 Bonmatin, J.-M., Analytique, validation, prélèvements en vue du dosage du fipronil dans les pollens. Résumé des principales actions 2002-2003. CNRS, 2003, 24.

M303 Faucon, J.-P., Chauzat, M.P., Enquête multifactorielle prospective, résultats des recherches fipronil. Afssa, 2003, 5.

M303 Faucon, J.-P., Chauzat, M.P., Enquête multifactorielle prospective, résultats des recherches fipronil. Afssa, 2003, 5.

M305 Belzunces, L.P., Rapport d'étude du programme : Impact de la contamination du miel par le fipronil sur l'activité et la survie des abeilles : aspects physiologiques et analytiques. Inra, Avignon, 2003, 14.

M307 ADAM, Etude des conséquences du traitement des semences de tournesol par le

Régent TS®, sur le comportement de récolte des abeilles, en situation expérimentale sous tunnel. ADAM : association de développement de l'apiculture en Midi-Pyrénées, auzeville, 2003, 49.

M308 Tisseur, M., Rodriguez, A., Gandrey, J., Maurin, G., Devillers, J., Etude sur la modélisation de l'activité des colonies d'abeilles dans le but d'estimer les modifications de leur comportement : compte rendu des expérimentations conduites en 2001 et 2002. ACTA, 2002, 64.

M309 Giffard, H., Observations du comportement de butinage des abeilles sur culture de tournesol issue de semences pelliculées Régent TS. Test sous tunnels en Vendée. Testapi, 2003, 57.

M310 Orry, S., Etude2 : exposition des abeilles aux poussières issues de semis de tournesols protégés au fipronil en plein champ. BASF Agro, 2004, 282.

M311 Orry, S., Validation de la méthode d'analyse des résidus fipronil et de son métabolite dans les matrices végétales (lavande et tibouchine) et les couvains. Détermination des résidus de fipronil et de son métabolite dans les abeilles, les couvains, les réserves fraîches, les matrices végétales et l'eau et analyse chromatographique des prélèvements d'air. BASF agro, 2002, 95.

M312 Orry, S., Etude 3 : tests attrition et poussières au laboratoire sur deux variétés de tournesol-2003. BASF Agro, 2004, 9.

M313 Orry, S., Etude 1 : Etude saisine des rejets potentiels de poussières sur semoirs-2003 Rapport intermédiaire-Mars 2004. BASF Agro, 2004, 104.

M314 Bonmatin, J.-M., Annexe : tableau de résultats. Détection et quantification du fipronil et de ses trois dérivés dans des pollens de fleurs et de trappe à pollen. CNRS/CBM, 2004, 21.

M315 Chauzat, M.P., Clement, M.-C., Faucon, J.-P., Aubert, M., Recherches des résidus de fipronil et de ses métabolites dans les pelotes de pollen. Rapport intermédiaire. Enquête multifactorielle prospective. Afssa, 2004, 9.

M 316 Tisseur M. Decourtye A. Field study with sunflower and maize seeds treated with Regent TS: Sampling of pollen, BASF DocID: 2005/1006536, Generated by: ACTA, France, 2005

M317 Schur A. Determination of residues in pollen from BAS 350 23 I treated sunflower seeds in field crop, Europe 2004. Generated by: GAB Biotechnologie GmbH & GAB analytic GmbH, Germany ?BASF DocID: **2005/1006471, 2005**

M318 : Schur A Residues samples from honey bee colonies (*Apis mellifera* L.) exposed to sunflowers treated with Regent TS in a semi-field test in Spain 2004. BASF DocID: 2005/1006523. Generated by: GAB, Germany, 2005

M319 : Moreno S. Study of the presence of Fipronil/metabolites in maize under field conditions in the North of Spain, 2004. Generated by: Agricultura y Ensayo S.L, Spain. BASF DocID: 2005/1006472, 2005

M321 : Kerl W., Mackenroth C. Determination of Fipronil and its metabolites in maize pollen from commercial fields in France (SOLEVI), 2004. Generated by: BASF, Germany. BASF DocID: 2005/1006469, 2005

M322 : Decourtye A., Tisseur M. Tunnel study on the effects of a sunflower seed treatment using Regent TS on honeybees (*Apis mellifera* L.): Samples of pollen and nectar collected by honeybees. BASF DocID: 2005/1006529, Acta, 2005

M323 : Bocksch S. Assessment of side effects of Reg.No. 4673253 (MB46136) to the honey bee, *Apis mellifera* L. in the laboratory. BASF: 2004/1027274. Generated by: GAB, Germany 2004

M324 : Tunnel study on the effects of a sunflower seed treatment using Regent TS on honeybees (*Apis mellifera* L.): Samples of pollen and nectar collected by honeybees. BASF: 2005/1006522, 2005

## Annexe 2 : Fiche Agritox Fipronil

Dernière mise à jour de la fiche d'information le 08/09/2000

### 1 - IDENTITÉ

**Substance active : fipronil**

**Source de l'information :** Rhone Poulenc Agrochimie

**Obtenteur de la molécule :** Rhone Poulenc Agrochimie

**Activité biologique principale :** insecticide

**Famille chimique :** pyrazole

### Dénominations

PRO : fipronil

BSI : fipronil

CAS : 120068-37-3

### Noms chimiques

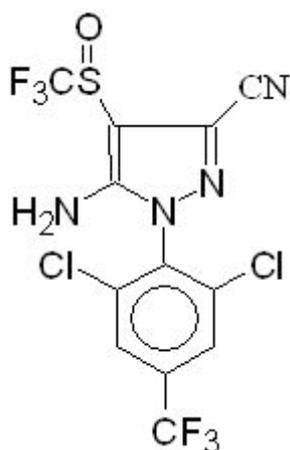
CAS : 1H-PYRAZOLE-3-CARBONITRILE, 5-AMINO-1-[2,6-DICHLORO-4-(TRIFLUOROMETHYL)PHENYL]-4-[(TRIFLUOROMETHYL)SULFINYL]-

**Formule brute :** C<sub>12</sub> H<sub>4</sub> Cl<sub>2</sub> F<sub>6</sub> N<sub>4</sub> O S

**Pureté minimale :** 95

**Poids moléculaire :** 437.5

**Formule plane :**



## 2 - PROPRIÉTÉS PHYSIQUES ET CHIMIQUES

### 2.1 ETAT PHYSIQUE

- **solide** blanc à odeur de moisi

### 2.2 TENSION DE VAPEUR

- **0.37  $\mu\text{Pa}$**   
(Source de l'information : Rhone Poulenc Agrochimie)

### 2.3 CONSTANTE DE HENRY

- **3.75 e-5 Pa\*m<sup>3</sup>/mole** à 20°C  
(Source de l'information : Rhone Poulenc Agrochimie)

### 2.4 SOLUBILITÉS DANS L'EAU

- **1.9 mg/l** à 20 °C  
(Source de l'information : Rhone Poulenc Agrochimie)
- **2.4 mg/l** à 20 °C et au pH de 5  
(Source de l'information : Rhone Poulenc Agrochimie)
- **2.2 mg/l** à 20 °C et au pH de 9  
(Source de l'information : Rhone Poulenc Agrochimie)

### 2.5 SOLUBILITÉS DANS LES SOLVANTS ORGANIQUES

- **acetate ethyl : 265 g/l**  
(Source de l'information : Rhone Poulenc Agrochimie)
- **acetone : 546 g/l**  
(Source de l'information : Rhone Poulenc Agrochimie)
- **dichloromethane : 22.3 g/l**  
(Source de l'information : Rhone Poulenc Agrochimie)
- **hexane : 28 mg/l**  
(Source de l'information : Rhone Poulenc Agrochimie)
- **methanol : 137.5 g/l**  
(Source de l'information : Rhone Poulenc Agrochimie)
- **octanol : 12.2 g/l**  
(Source de l'information : Rhone Poulenc Agrochimie)
- **propane-2-ol : 36.2 g/l**

(Source de l'information : Rhone Poulenc Agrochimie)

- **toluene : 3 g/l**  
(Source de l'information : Rhone Poulenc Agrochimie)

## 2.6 COEFFICIENT DE PARTAGE OCTANOL/EAU

- **log P : 4** à 20 °C  
(Source de l'information : Rhone Poulenc Agrochimie)

## 2.7 STABILITÉ DANS L'EAU

- temps de demi-vie : **>30 jour(s)** au pH de 5 à 7  
(Source de l'information : Rhone Poulenc Agrochimie)
- temps de demi-vie : **28 jour(s)** au pH de 9  
(Source de l'information : Rhone Poulenc Agrochimie)

## 2.8 PHOTOTRANSFORMATION DIRECTE DANS L'EAU

- **DT50 : <1 jours** - Méthode : EPA  
(Source de l'information : Rhone Poulenc Agrochimie)

## 2.9 RENDEMENT QUANTIQUÉ de la phototransformation dans l'eau à $\lambda > 290$ nanomètres

- **phy : 0.199**  
(Source de l'information : )

## 2.10 DISSOCIATION DANS L'EAU

- **Absence de dissociation**

## 3 - TOXICITÉ

### 3.1 ABSORPTION, DISTRIBUTION, ÉLIMINATION ET MÉTABOLISME

### 3.2 ABSORPTION DERMALÉ

### 3.3 TOXICITÉ AIGUË PAR VOIE ORALE

- **DL50 lapin : 43 mg/kg** - Sexe : MF - Véhicule : en solution avec du tween  
(Source de l'information : Rhone Poulenc Agrochimie)
- **DL50 poulet : 10 mg/kg** - Sexe : MF (Source de l'information : Rhone Poulenc Agrochimie)
- **DL50 rat : 97 mg/kg** - Sexe : MF - Souche : CD - Véhicule : en solution dans l'huile de maïs (Source de l'information : Rhone Poulenc Agrochimie)

### 3.4 TOXICITÉ AIGUË PAR VOIE DERMAL

- **DL50 lapin : 354 mg/kg** - Sexe : MF - Souche : New Zealand - Véhicule : en solution dans l'huile de maïs (Source de l'information : Rhone Poulenc Agrochimie)
- **DL50 rat : >2000 mg/kg** - Sexe : MF - Souche : CD - Véhicule : pâte avec de l'eau (Source de l'information : Rhone Poulenc Agrochimie)

### 3.5 TOXICITÉ AIGUË PAR INHALATION

- **Toxicité aigue par inhalation, 4 heures, rat** - Sexe : MF - Souche : CD  
**CL50 : 0.68 mg/l d'air** (Source de l'information : Rhone Poulenc Agrochimie)

### 3.6 IRRITATION CUTANÉE

- **Test d'irritation cutanée, lapin : non irritant**  
(Source de l'information : Rhone Poulenc Agrochimie)

### 3.7 IRRITATION OCULAIRE

- **Test d'irritation oculaire, lapin : non irritant**  
(Source de l'information : Rhone Poulenc Agrochimie)

### 3.8 SENSIBILISATION CUTANÉE

- **Sensibilisation retardée par voie cutanée, cobaye : non sensibilisant**  
Magnusson et Kligmann (Source de l'information : Rhone Poulenc Agrochimie)

### 3.9 GÉNOTOXICITÉ

#### 3.10 TOXICITÉ À TERME ET CANCÉROGÉNÈSE

- **Toxicité par voie orale, 1 an , chien** - Sexe : MF - Souche : Beagle  
**DSE/CSE = 0.2 mg/kg p.c./j** (Source de l'information : Rhone Poulenc Agrochimie)
- **Toxicité par voie orale et étude de la cancérogenèse, 18 mois , souris** -  
Sexe : MF - Souche : CD-1  
**DSE/CSE = 0.5 ppm** (Source de l'information : Rhone Poulenc Agrochimie)
- **Toxicité par voie orale, 2 ans , rat** - Sexe : MF - Souche : CD  
**DSE/CSE = 0.02 mg/kg p.c./j** (Source de l'information : Rhone Poulenc Agrochimie)

#### 3.11 TOXICITÉ SUR LA REPRODUCTION ET LE DÉVELOPPEMENT

- **Reproduction sur deux générations par voie orale, rat**

DSE param.reproduction = **0.15 mg/kg/j** (Source de l'information : Rhone Poulenc Agrochimie)

- **Tératogénèse par voie orale, rat**  
DSE mere = **4 mg/kg/j** (Source de l'information : Rhone Poulenc Agrochimie)
- **Tératogénèse par voie orale, lapin**  
DSE embryon, foetus = **1 mg/kg/j** (Source de l'information : Rhone Poulenc Agrochimie)

### 3.12 NEUROTOXICITÉ

### 3.13 AUTRES ÉTUDES

### 3.14 DOSE JOURNALIÈRE ACCEPTABLE (DJA)

- **DJA = 0.0002mg/kg/j** DSE = 0.02 mg/kg p.c./j (2 ans, voie orale, rat ) FS = 100  
(Décision de la Commission des Toxiques le 20/10/03)

### 3.15 DOSE DE RÉFÉRENCE AIGUË (DRfA ou ARfD)

- **ARfD = 0.009** DSE = 0.9 mg/kg p.c./j (Neurotoxicité, voie orale, rat du développement) FS = 100 (Décision de la Commission des Toxiques le 17/09/03)

### 3.16 NIVEAU D'EXPOSITION ACCEPTABLE POUR L'OPÉRATEUR (NEAO ou AOEL)

- **AOEL = 0.0035** DSE = 0.35 mg/kg p.c./j (90 jours, voie orale, rat ) FS = 100  
(Décision de la Commission des Toxiques le 17/09/03)

## 4 - COMPORTEMENT DANS L'ENVIRONNEMENT

### 4.1 PERSISTANCE

#### 4.1.1 PERSISTANCE EN LABORATOIRE

- **DT50 : 62 jours** température : 22 dose d'application : 200 g/ha  
Description du sol - Type : sable localisation : DEU SOL STANDARD  
2.2 % MO : 3.35 (Source de l'information : Rhone Poulenc Agrochimie)
- **DT50 : 117 jours** température : 22 dose d'application : 200 g/ha  
Description du sol - Type : argile sablolimoneuse localisation : GBR %  
MO : 0.34 (Source de l'information : Rhone Poulenc Agrochimie)
- **DT50 : 18 jours** température : 22 dose d'application : 200 g/ha  
Description du sol - Type : sable limonoargileux localisation : FRA %  
MO : 1.16 (Source de l'information : Rhone Poulenc Agrochimie)

- **DT50 : 40 jours** température : 22 dose d'application : 200 g/ha  
Description du sol - Type : sable limonoargileux localisation : FRA %  
MO : 1.59 (Source de l'information : Rhone Poulenc Agrochimie)

#### 4.1.2 PERSISTANCE EN PLEIN CHAMP

- DT plein champ DT50 (en jours) MIN : 96 MAX : 135

#### 4.1.3 AUTRES DONNEES DE PERSISTANCE

- DT50 :96 - 135 j, DT90< 365 j, selection SIRIS = 120 j

#### 4.1.4 PHOTODEGRADATION DANS LE SOL

- **DT50 jour : 34 jours DT50 nuit : 49 jours** source de lumière :  
xenon photopériode : 8/16  
équivalent a une journée de Floride dose d'application : 0.25 kg/ha  
Description du sol - Type : limon argileux localisation : USA Floride  
(Source de l'information : Rhone Poulenc Agrochimie)

### 4.2 MOBILITE

#### 4.2.1 ADSORPTION ET DESORPTION (Koc et Kd)

- **Koc adsorption - Moyenne : 2671**  
Description du sol - Type : sable localisation : DEU standard allemand no  
2.2 % MO : 5.76 (Source de l'information : Rhone Poulenc Agrochimie)
- **Koc désorption - Moyenne : 2491**  
Description du sol - Type : sable localisation : DEU standard allemand no  
2.2 % MO : 5.76 (Source de l'information : Rhone Poulenc Agrochimie)
- **Koc adsorption - Moyenne : 7818**  
Description du sol - Type : argile sablo limoneuse localisation : GBR %  
MO : 7.31 (Source de l'information : Rhone Poulenc Agrochimie)
- **Koc désorption - Moyenne : 13538**  
Description du sol - Type : argile sablo limoneuse localisation : GBR %  
MO : 7.31 (Source de l'information : Rhone Poulenc Agrochimie)
- **Koc adsorption - Moyenne : 3493**  
Description du sol - Type : limon localisation : GBR sol choisi par  
RPA % MO : 0.58 (Source de l'information : Rhone Poulenc Agrochimie)
- **Koc désorption - Moyenne : 3612**  
Description du sol - Type : limon localisation : GBR sol choisi par  
RPA % MO : 0.58 (Source de l'information : Rhone Poulenc Agrochimie)
- **Koc adsorption - Moyenne : 4991**  
Description du sol - Type : sable limonoargileux localisation : FRA %

MO : 1.99 (Source de l'information : Rhone Poulenc Agrochimie)

- **Koc désorption - Moyenne : 5431**  
Description du sol - Type : sable limonoargileux localisation : FRA %  
MO : 1.99 (Source de l'information : Rhone Poulenc Agrochimie)
- **Koc adsorption - Moyenne : 4214**  
Description du sol - Type : sable limonoargileux localisation : FRA %  
MO : 2.74 (Source de l'information : Rhone Poulenc Agrochimie)
- **Koc désorption - Moyenne : 5059**  
Description du sol - Type : sable limonoargileux localisation : FRA %  
MO : 2.74 (Source de l'information : Rhone Poulenc Agrochimie)
- Koc min : 427 Koc max : 1248

#### 4.2.2 TESTS DE LIXIVATION SUR COLONNES

- **immobile**  
Description du sol - Type : sable localisation : DEU SOL STANDARD  
2.2 % MO : 3.35 (Source de l'information : Rhone Poulenc Agrochimie)
- **immobile**  
Description du sol - Type : limon localisation : GBR % MO : 4.25  
(Source de l'information : Rhone Poulenc Agrochimie)
- **peu mobile**  
Description du sol - Type : argile sablolimoneuse localisation : GBR %  
MO : 0.34 (Source de l'information : Rhone Poulenc Agrochimie)
- **immobile**  
Description du sol - Type : sable limonoargileux localisation : FRA %  
MO : 1.16 (Source de l'information : Rhone Poulenc Agrochimie)
- **immobile**  
Description du sol - Type : sable limonoargileux localisation : FRA %  
MO : 1.59 (Source de l'information : Rhone Poulenc Agrochimie)

#### Observations sur mobilité :

Koc moyen : 727, le metabolite amide est plus mobile <203

#### 4.3 BIODEGRADABILITE FACILE

#### 4.4 DEGRADATION DANS LE SYSTEME EAU-SEDIMENT

Description du sol - Type : sediment localisation : systeme eau sediment choisi par la firme

eau  
sédiment  
système eau-sédiment DT50 : 15 jours

(Source de l'information : Rhone Poulenc Agrochimie)

## 5 - ÉCOTOXICITÉ

### 5.1 EFFETS SUR LES OISEAUX ET AUTRES VERTÉBRÉS TERRESTRES

#### 5.1.1 TOXICITÉ ORALE AIGUË CHEZ LES OISEAUX

- **Anas platyrhynchos - DL50 : >2150 mg/kg p.c./j**  
(Source de l'information : Rhone Poulenc Agrochimie)
- **Columba livia - DL50 : >2000 mg/kg p.c./j**  
(Source de l'information : Rhone Poulenc Agrochimie)
- **Passer domesticus - DL50 : 1120 mg/kg p.c./j**  
(Source de l'information : Rhone Poulenc Agrochimie)
- **Colinus virginianus - DL50 : 11.3 mg/kg p.c./j**  
(Source de l'information : Rhone Poulenc Agrochimie)
- **Phasianus colchicus - DL50 : 31 mg/kg p.c./j**  
(Source de l'information : Rhone Poulenc Agrochimie)
- **Alectoris rufa - DL50 : 34 mg/kg p.c./j**  
(Source de l'information : INRA/PHYTO)
- **Perdix perdix - DL50 : 15 mg/kg p.c./j**  
(Source de l'information : INRA/PHYTO)

#### 5.1.2 TOXICITÉ ALIMENTAIRE CHEZ LES OISEAUX

- **Anas platyrhynchos - CL50 : >5000 mg/kg aliment**  
(Source de l'information : Rhone Poulenc Agrochimie)
- **Colinus virginianus - CL50 : 48 mg/kg aliment**  
(Source de l'information : Rhone Poulenc Agrochimie)

#### 5.1.3 TOXICITÉ SUR LA REPRODUCTION CHEZ LES OISEAUX

- **Anas platyrhynchos - CSEO : 1000 mg/kg aliment - Durée d'exposition : 161 jours** (Source de l'information : Rhone Poulenc Agrochimie)

- **Colinus virginianus - CSEO : 10 mg/kg aliment** - Durée d'exposition : 142 jours (Source de l'information : Rhone Poulenc Agrochimie)

#### 5.1.4 TOXICITÉ ORALE AIGUË CHEZ LES VERTÉBRÉS TERRESTRES

#### 5.1.5 TOXICITÉ CHRONIQUE CHEZ LES VERTÉBRÉS TERRESTRES

### 5.2 EFFETS SUR LES ORGANISMES AQUATIQUES

#### 5.2.1 TOXICITÉ AIGUË CHEZ LES POISSONS

- **Cyprinus carpio - CL50 : 340 µg/l** - Durée d'exposition : 96 heures - Exposition dynamique (Source de l'information : Rhone Poulenc Agrochimie)
- **Lepomis macrochirus - CL50 : 85 µg/l** - Durée d'exposition : 96 heures - Exposition dynamique (Source de l'information : Rhone Poulenc Agrochimie)
- **Oncorhynchus mykiss (ex Salmo gairdneri) - CL50 : 248 µg/l** - Durée d'exposition : 96 heures - Exposition dynamique (Source de l'information : Rhone Poulenc Agrochimie)

#### 5.2.2 TOXICITÉ CHRONIQUE CHEZ LES POISSONS

- **Oncorhynchus mykiss (ex Salmo gairdneri) - CSEO : 0.015 mg/l** - Durée d'exposition : 90 jours (Source de l'information : Rhone Poulenc Agrochimie)

#### 5.2.3 BIOCONCENTRATION CHEZ LES POISSONS

- **Lepomis macrochirus - FBC : 321** (Source de l'information : Rhone Poulenc Agrochimie)
- **Lepomis macrochirus - FBC : 164** (Source de l'information : Rhone Poulenc Agrochimie)

#### 5.2.4 TOXICITÉ AIGUË CHEZ LES INVERTÉBRÉS AQUATIQUES VIVANT DANS L'EAU OU LE SÉDIMENT

- **Daphnia magna - CE50 : 190 µg/l** - Durée d'exposition : 48 heures (Source de l'information : Rhone Poulenc Agrochimie)

#### 5.2.5 TOXICITÉ CHRONIQUE CHEZ LES INVERTÉBRÉS AQUATIQUES VIVANT DANS L'EAU OU LE SÉDIMENT

- **Daphnia magna - CSEO : 0.0098 mg/l** - Durée d'exposition : 21 jours (Source de l'information : Rhone Poulenc Agrochimie)
- **Daphnia magna - CSEO : 0.0200 mg/l** - Durée d'exposition : 21 jours

(Source de l'information : Rhone Poulenc Agrochimie)

## **5.2.6 EFFETS SUR LA CROISSANCE DES ALGUES ET SUR LES PLANTES AQUATIQUES**

- **Scenedesmus subspicatus - Ceb50 : 68 µg/l** - Durée d'exposition : 96 heures (Source de l'information : Rhone Poulenc Agrochimie)

## **5.2.7 AUTRES ÉTUDES AQUATIQUES - EFFETS SUR MICRO ET MÉSOCOSMES**

## **5.3 EFFETS SUR LES ABEILLES**

### **5.3.1 TOXICITÉ AIGUË**

- **abeille - DL50 Contact : 0.00593 µg/abeille - DL50 Orale : 0.00417 µg/abeille** (Source de l'information : Rhone Poulenc Agrochimie)  
EPA 141-1/MAFF1986

#### **Autres études :**

- Une étude au champ (tournesol traité avec FS 500 g/l): pas d'effet nocif observé.- Une étude sous tunnel (tournesol traité: pas d'effet nocif observé.- Une analyse de résidus de fipronil, MB046136, MB045950 et MB046513 dans des échantillons prélevés dans ces deux premières études avec aucune détection au dessus de la limite de quantification de 2 µg/kg.- Une étude sous tunnel comparant le traitement de semence de tournesol (FS 500 g/l) au traitement du sol avant semis (WG 80% à 200 g s.a./ha): pas d'effet nocif observé.- Une étude sous tunnel comparant le traitement de semence de tournesol (FS 500 g/l) au traitement du sol dans la raie de semis (GB 0.5% à 25 g s.a./ha): des comportements anormaux qui n'ont pas été attribués aux traitements en raison de comportements similaires observés dans le tunnel témoin et dans les champs avoisinants.

## **5.4 EFFETS SUR LES ARTHROPODES TERRESTRES AUTRES QUE LES ABEILLES**

#### **Autres études :**

-Etude de laboratoire étendu avec EXP60720A (WG 80%, 100 g s.a./ha dans la raie de semis, 160 j après traitement) = 25% d'effet sur la reproduction d'Aleochara bilineata-Etude de laboratoire étendu avec EXP60720A (WG 80%, 100 g s.a./ha dans la raie de semis, 28 et 119 j après traitement) = 20 et 0% de mortalité d'adultes Poecilus cupreus-Etude de laboratoire avec EXP61829A (GB 0.5%, 19 et 38 g s.a./ha par incorporation de surface et en ligne) = 2.8 et 22.6% d'effet sur la reproduction d'Aleochara bilineata-Etude de laboratoire avec EXP61829A (GB 0.5%, 18 et 35 g s.a./ha par incorporation de surface et en ligne) = 27 et 33% d'effet sur la survie d'adulte Poecilus cupreus-Etude de laboratoire avec grains de maïs traité avec EXP80415A (FS 500 g/l, 396 g s.a./ha) = 91.6% d'effet sur la reproduction d'Aleochara bilineata-Etude de laboratoire étendu avec grains de maïs traité avec EXP80415A (FS 500 g/l, 75 g s.a./ha) = 89% d'effet sur la reproduction d'Aleochara bilineata -Etude de laboratoire avec grains de maïs traité avec EXP80415A (FS 500 g/l, 246 g s.a./ha) = 10% effet sur la survie d'adulte Poecilus cupreus

## **5.5 EFFETS SUR LES VERS DE TERRE ET AUTRES MACRO-ORGANISMES NON CIBLES DU SOL supposés être exposés à un risque**

### **5.5.1 TOXICITÉ AIGUË**

- **Eisenia foetida (foetida ou andrei) - CL50 : >1000 mg/kg sol** - Durée d'exposition : 14 jours - Méthode : OCDE 207 (Source de l'information : Rhone Poulenc Agrochimie)

### **5.5.2 EFFETS SUR LA REPRODUCTION**

### **5.6 EFFETS SUR MICRO-ORGANISMES NON CIBLES DU SOL**

- **Concentration ou dose : 1000 g/ha**  
Effets observés : N : pas d'effet significatif ; C : pas d'effet significatif;  
durée : 28 jours (Source de l'information : Rhone Poulenc Agrochimie)

### **5.7 EFFETS SUR D'AUTRES ORGANISMES NON CIBLES (FLORE ET FAUNE) supposés être exposés à un risque**

### **5.8 EFFETS SUR LES MÉTHODES BIOLOGIQUES DE TRAITEMENT DES EAUX USÉES**

## **6 - VALEURS REGLEMENTAIRES**

### **CLASSEMENT TOXICOLOGIQUE**

**T N R23/24/25 R48/25 R50/53** (Décision de la Commission des Toxiques le 20/10/03)

Toxique (T)

dangereux pour l'environnement

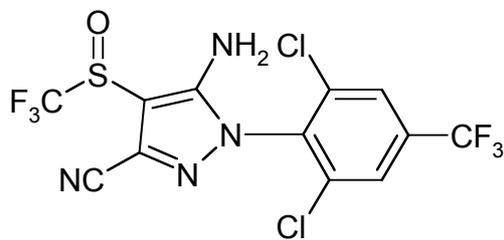
R23/24/25 toxique par inhalation, contact avec la peau et par ingestion

R48/25 toxique : risque d'effets graves pour la santé en cas d'exposition prolongée par ingestion

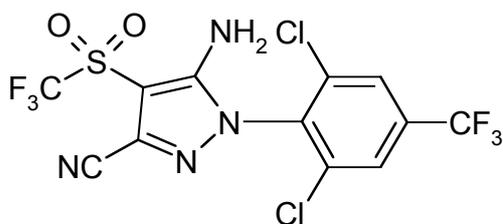
R50/53 très toxique pour les organismes aquatiques, peut entraîner des effets néfastes à long terme pour l'environnement aquatique

### **LIMITES MAXIMALES DE RESIDUS (LMR)**

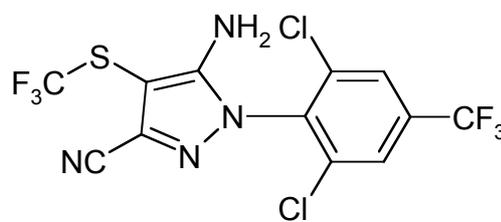
## Annexe 3 : Le fipronil et ses principaux métabolites



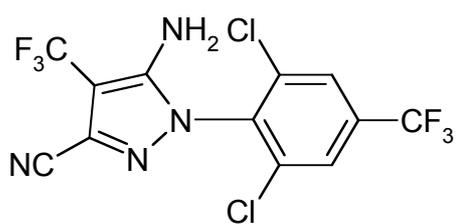
Fipronil  
(MB46030)



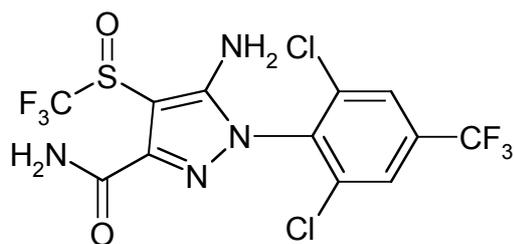
(MB46136)



(MB45950)



(MB46513)



(RPA200766)