

**Commission d'étude de la toxicité des  
produits antiparasitaires à usage agricole**

*Séance du mercredi 21 mai 2003*

**REPONSE A LA SAISINE DE LA COMMISSION D'ETUDE DE LA  
TOXICITE RELATIVE A DES MORTALITES IMPORTANTES  
D'ABEILLES SUITE AUX SEMIS DE TOURNESOL DANS LA REGION  
MIDI-PYRENEES**

*Avis de la commission sur la saisine du ministère de l'agriculture, de l'alimentation, de la pêche et  
des affaires rurales (CET 2003-001), en date du 25 avril 2003*

Suite aux nombreuses chutes d'activité de ruches constatées sur le ban communal de Lacaugne (31) entre le 20 mars et le 7 avril 2003, se traduisant par des symptômes identiques, à savoir un tapis d'abeilles mortes ou mourantes à l'entrée des ruches, un couvain non couvert par les abeilles et des chutes d'abeilles à la sortie de la ruche, des prélèvements d'abeilles mortes et vivantes ont été réalisés dans deux ruchers.

Ceux ci correspondent au rucher de Monsieur Lacoste et à celui de Monsieur Privat.

Par ailleurs, des prélèvements d'abeilles ( mélange d'abeilles mortes et vivantes) ont été réalisés par Madame Bernes dans un rucher dont la localisation semble différente (Montpitol vers ALBI).

Les prélèvements effectués par le SRPV Midi Pyrénées ont été envoyés pour analyses au GIRPA, Groupement Interrégional de Recherche sur les Produits Agropharmaceutiques.

**I QUALITE DES DONNEES ANALYTIQUES DISPONIBLES**

La vérification de la qualité des données analytiques disponibles nécessite d'examiner d'une part la validité de la méthode d'analyse utilisée et d'autre part la qualité des échantillons biologiques analysés.

En ce qui concerne la méthode d'analyse utilisée, celle ci est une méthode développée par le GIRPA. Elle est basée sur une extraction des résidus de fipronil et de son métabolite MB 46136 par homogénéisation des échantillons dans l'acétone suivi d'une double purification par partage liquide/solide sur cartouche d'alumine et cartouche immunologique et enfin d'une quantification par chromatographie en phase gazeuse sur colonne capillaire avec détecteur de masse triple quadripôle.

Au sens de l'arrêté du 12 janvier 1998, une méthode d'analyse des résidus de produit phytopharmaceutique est validée par la détermination expérimentale de sa spécificité, de sa précision, de son taux de récupération et de sa limite de détermination.

Dans cet arrêté, la spécificité d'une méthode est définie comme étant la capacité de celle ci de discerner la substance recherchée des autres substances.

Dans le cas présent, la méthode de détection mise en place permet une identification des molécules sans ambiguïté grâce à l'utilisation de la spectrophotométrie de masse triple quadripôle. Par ailleurs, la spécificité de la méthode a été vérifiée par l'analyse de deux spécimens d'abeille témoins.

La précision est définie par l'arrêté du 12 janvier 1998 comme le degré de concordance des résultats de tests indépendants obtenus dans des conditions déterminées, et la répétabilité comme la précision obtenue dans des conditions répétables, c'est à dire des conditions dans lesquelles les résultats de tests indépendants sont obtenus par l'application d'une même méthode à un matériel d'essai identique dans un même laboratoire et par un même opérateur utilisant un même équipement à des brefs intervalles de temps.

Dans la présente étude, la répétabilité a été vérifiée sur 5 échantillons indépendants surchargés à 2 µg/kg en fipronil ou en son métabolite MB 46136. La répétabilité a été exprimée par le coefficient de variation associé aux résultats des taux de récupération. Ce coefficient de variation est de 12% dans le cas du fipronil et de 8% dans celui du métabolite MB 46136. Ces coefficients de variation apparaissent comme tout à fait satisfaisant.

Dans ce même arrêté, la notion de reproductibilité est définie comme étant une validation de la répétabilité de la récupération de matière représentative et à des niveaux de concentration représentatifs par au moins un laboratoire qui est indépendant de celui qui a initialement validé l'étude.

Dans le cas présent, il ne semble pas qu'une étude de reproductibilité ait été réalisée.

La récupération correspond au pourcentage de la quantité de substance active ou de métabolite caractéristique ajouté initialement à un échantillon de matrice appropriée qui ne contient aucun niveau détectable de la substance recherchée qui est retrouvé après extraction et dosage.

Dans le protocole GIRPA, le taux de récupération a été déterminé sur 5 échantillons indépendants tant pour le fipronil que pour son métabolite MB 46136. La moyenne des taux de récupération à la limite de quantification est de respectivement 100% pour le fipronil et 111% pour son métabolite.

Enfin, la limite de détermination (ou limite de quantification) correspond au sens de l'arrêté du 12 janvier 1998 à la plus faible concentration testée à laquelle on obtient une récupération moyenne acceptable, normalement de 70 à 110% avec un écart type relatif de préférence inférieur ou égal à 20%. Dans le cas présent la limite de quantification est de 2µg/kg pour chaque molécule.

**En conclusion, la méthode d'analyse développée par le GIRPA peut donc être considérée comme validée. L'absence d'étude de reproductibilité ne remet pas en cause cette conclusion.**

En ce qui concerne les échantillons biologiques, compte tenu de l'interrogation concernant la qualification « Abeilles vivantes » il est proposé de ne retenir pour la suite de l'évaluation que les résultats obtenus sur les abeilles mortes. En effet il n'est pas possible de savoir si ces abeilles correspondent à des abeilles mourantes ou à des abeilles saines, c'est à dire ne présentant pas de symptômes à court ou moyen terme d'intoxication.

De plus les analyses ayant été effectuées sur des abeilles non triées, c'est à dire pouvant éventuellement être porteuses de pelotes de pollen il faudra considérer les résultats analytiques avec prudence.

**En conclusion, il est proposé de retenir pour l'évaluation les teneurs en fipronil et en métabolite MB 46136 dans les abeilles mortes .**

## II DANGEROUSITE DU FIPRONIL ET DU MB 46136

En première analyse la dangerosité du fipronil peut être évaluée à partir des données de toxicité par voie orale ou par contact déterminées en conditions de laboratoire.

Dans ces conditions expérimentales la DL50 contact du fipronil est de 5,93 ng/abeille et la DL 50 orale est de 4,17 ng/abeille.

En ce qui concerne le métabolite MB 46136 nous ne disposons pas aujourd'hui de donnée de toxicité. En première approche nous considèrerons que sa toxicité est équivalente à celle de la molécule mère. Cette hypothèse repose sur le fait que la sensibilité du récepteur GABA de la mouche du vinaigre est équivalente pour le fipronil et pour le MB46136.

Compte tenu du type de symptôme observés et de leur rapidité de survenue il semble que ceux ci soient dus à une intoxication de type aiguë. Dans ces condition il est pertinent de comparer les données de toxicité aiguë (DL50) et les teneurs en fipronil et en MB 46136 retrouvées.

Les teneurs en fipronil et en MB 46136 observées dans les abeilles mortes sont présentées dans le tableau suivant.

Référence des échantillons	FIPRONIL en µg/kg (en ng/abeille)*	MB46136 en µg/kg (en ng/abeille)*
LACOSTE	7,9 (0,79)	14,3 (1,43)
PRIVAT 1	2,1 (0,21)	8,8 (0,88)
PRIVAT 2	2,1 (0,21)	9,3 (0,93)

*\*La comparaison des DL 50 et des teneurs en résidus dans les organismes nécessitant d'exprimer les deux données dans la même unité, nous considèrerons qu'un kilogramme d'abeille correspond à 10 000 abeilles.*

Les modes d'action de la molécule mère et du métabolite et leurs toxicité étant considérés comme identiques les teneurs en résidus de fipronil et de MB 46136 peuvent être ajoutées.

Les résultats sont présentés dans le tableau suivant.

Référence des échantillons	RESIDU TOTAL (en ng/abeille)*
LACOSTE	2,22
PRIVAT 1	1,09
PRIVAT 2	1,14

La comparaison des DL 50 et des teneurs en résidus totaux est présentée dans le tableau suivant.

Référence des échantillons	DL50 contact/teneur en résidus totaux	DL50 orale/teneur en résidus totaux
LACOSTE	2,7	1,9
PRIVAT 1	5,4	3,8
PRIVAT 2	5,2	3,6

La lecture de ce tableau fait apparaître de faible marge de sécurité entre les DL 50 et les teneurs en résidus totaux.

**Compte tenu des faibles marges de sécurité entre les DL 50 et les teneurs en résidus totaux le fipronil peut être, à lui seul, à l'origine des symptômes observés.**

### III ANALYSE DES DIFFERENTES MODALITES DE TRANSFERT ET D'EXPOSITION

Dans la saisine de la commission d'étude de la toxicité trois scénarios dans l'optique d'un usage agricole sont envisagés :

- 1) traitement de sols nus avec du Schuss
- 2) traitement de semences avec du Régent
- 3) contamination via des particules volatiles issues des semoirs.

En ce qui concerne le scénario 2, compte tenu de la saison la seule possibilité consisterait à envisager une contamination de pollen et de nectar de plantes adventices de la culture de tournesol via le fipronil enrobant les semences de tournesol. Cette hypothèse ne semble pas réaliste, compte tenu d'une part des pratiques agricoles et d'autre part des propriétés de la molécule.

Dans le cas du scénario 3, l'éventuelle contamination de l'environnement à partir de particules issues des semoirs ne peut pas être de nature à expliquer de manière plausible la gravité et la rapidité des symptômes observés.

**Le seul scénario réaliste pouvant potentiellement expliquer la gravité et la rapidité des symptômes observés pourrait être celui concernant la dérive d'un brouillard de traitement suite à un traitement de sols nus avec du Schuss.** En effet compte tenu de la nature des effets observés et de leur rapidité d'apparition ceux ci ne peuvent être dus qu'à un contact aigu direct à des résidus .

Il est tout à fait possible d'envisager une contamination soit directe d'un rucher situé à proximité immédiate d'une parcelle traitée soit indirecte à partir de la contamination d'une haie fleurie de type aubépine ou de végétation fleurie à proximité d'une parcelle traitée.

En absence de donnée analytiques dans du pollen ou du nectar et en l'absence d'information concernant la nature des plantes éventuellement contaminées et butinées il est aujourd'hui irréaliste d'envisager de corréler les teneurs observées dans les abeilles avec les niveaux d'exposition plausible au fipronil. En effet, le développement d'un scénario chiffré correspondant à ces deux cas de figure en l'absence d'un minimum d'information tel que la nature des plantes éventuellement contaminées ou la quantité de nectar et pollen consommée ne pourrait conduire qu'à des évaluations très hasardeuses car faisant appel à des hypothèses très incertaines.