
**Etude pharmacocinétique et pharmacodynamique de la
léthalité induite par l'imidaclopride et ses métabolites
chez l'abeille domestique *Apis mellifera* L.**

Séverine Suchail

Problématique Gaucho® en France

1991: AMM, homologué sur betterave, maïs et tournesol

1994: 1^{er} problèmes relevés par apiculteurs

1995: - Essais réalisés sous tunnel par Bayer
essais ne montrant aucune implication du Gaucho®
- Baisse des récoltes en miel de 40%

1997: - Nouveaux essais menés par Bayer
- Baisse des récolte en miel de 80%

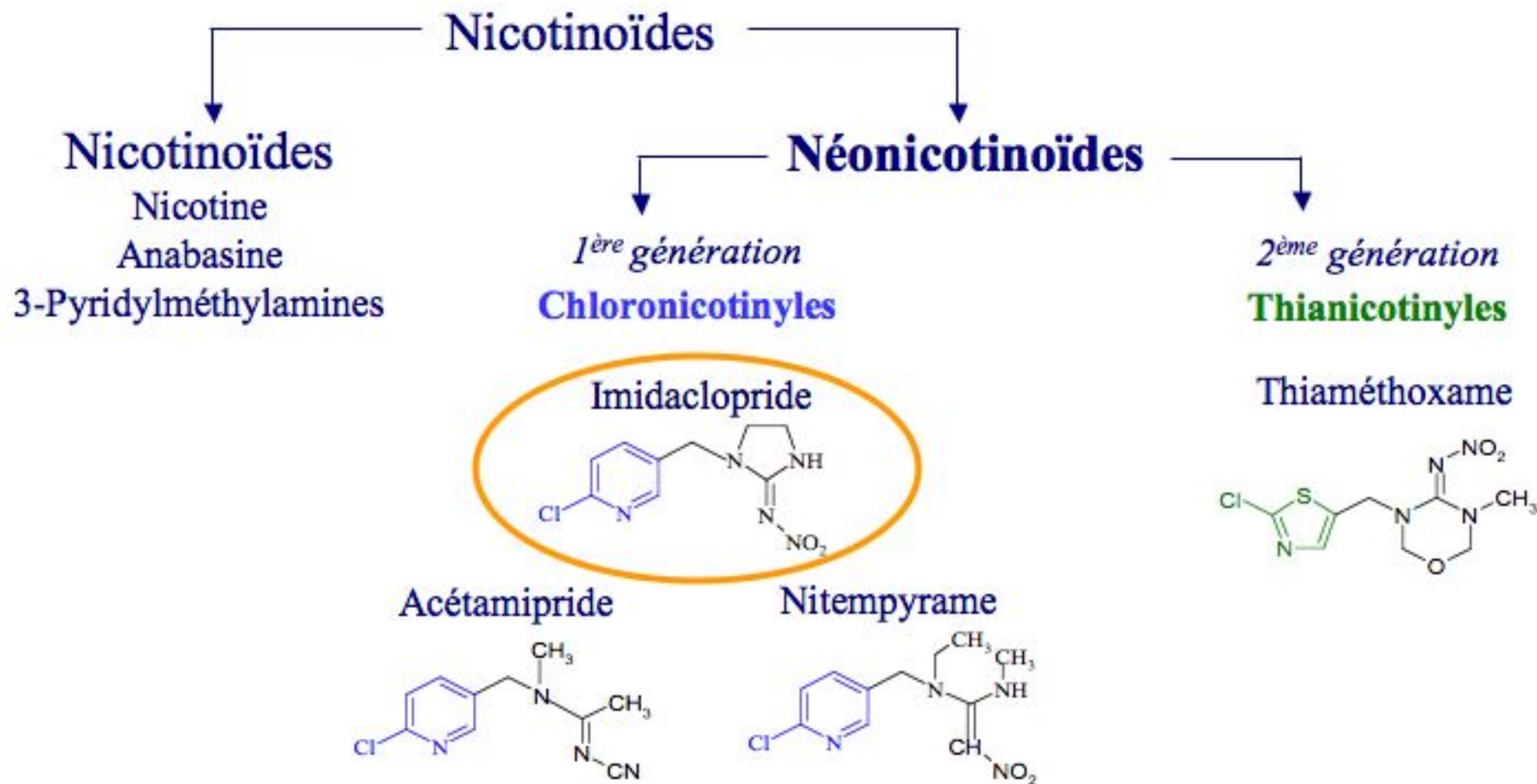
1998: - Comité de pilotage INRA, CNRS, AFSSA, Bayer
- Interdiction du Gaucho® dans Indre et Vendée

Qu'est-ce que le Gaucho®?

- Marque déposée d'un insecticide systémique composé d'un principe actif, l'**imidaclopride** (Bayer Crop Science)
- Utilisé en traitement de semences, pulvérisation
- Gaucho® utilisé dans 120 pays sur 140 cultures comme tournesol, riz, maïs, céréales,....

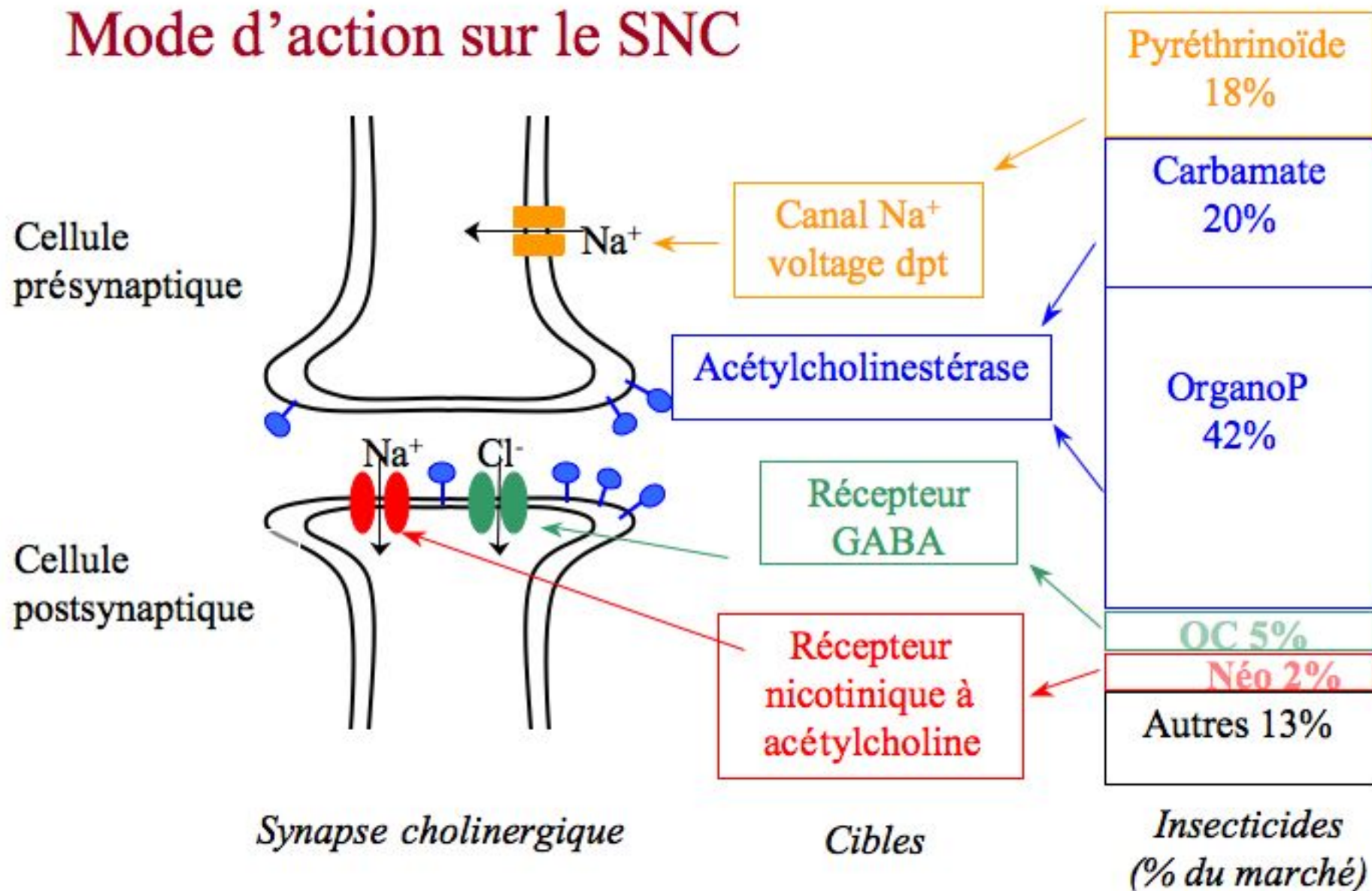
L'imidaclopride

➤Premier représentant d'une nouvelle famille d'insecticides



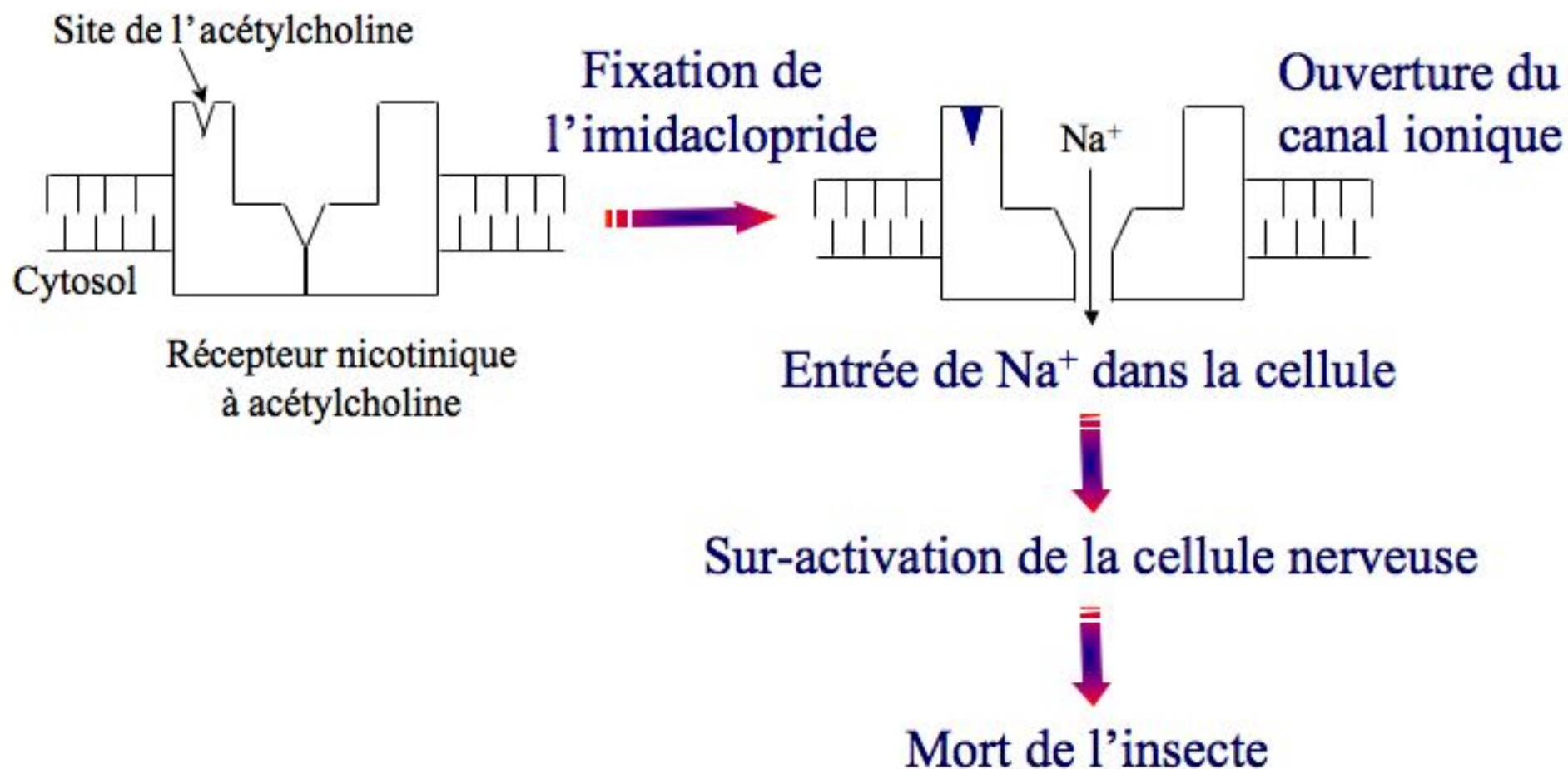
L'imidaclopride

Mode d'action sur le SNC



L'imidaclopride

➤ Action au niveau du système nerveux central

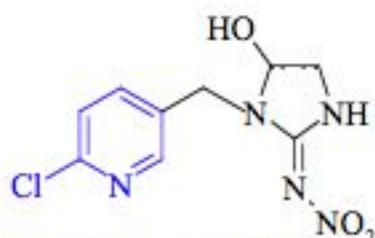


Propriétés de l'imidaclopride

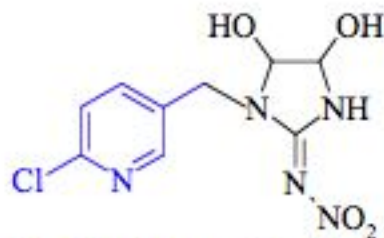
- Insecticide systémique: - xylémique (traitement des semences)
- phloémique (traitement foliaire)
- Action sur un grand nombre de ravageurs: - souterrains
- aériens
- Persistance d'action
- Toxicité sélective: - toxicité élevée chez les invertébrés
- toxicité faible chez les vertébrés

Métabolites de l'imidaclopride dans la plante

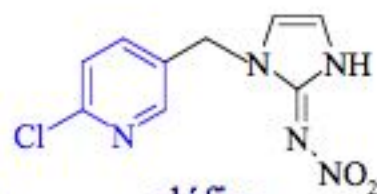
La plante: - vecteur de l'imidaclopride
- métabolise l'imidaclopride



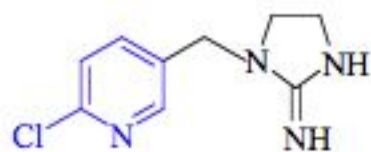
5-hydroxy-imidaclopride



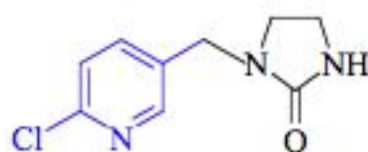
4,5-dihydroxy-imidaclopride



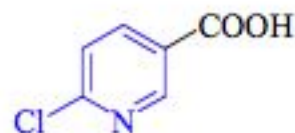
oléfine



dérivé guanidine



dérivé urée



acide 6-chloronicotinique

Impacts sur les insectes utiles

➤ Présence possible de l'imidaclopride dans nectar et pollen

Intoxication par ingestion ou contact direct

Intervention des récepteurs nicotiques dans l'activité cognitive

Altération possible du comportement des abeilles

Objectifs

Définir les mécanismes d'action de l'imidaclopride:

- Evaluer les impacts sur les insectes utiles
- Améliorer les connaissances de cette nouvelle molécule

1 - Etudes toxicologiques

➤ Détermination de la toxicité aiguë de l'imidaclopride

Après application orale et contact direct

Apis mellifera mellifera

Apis mellifera caucasica

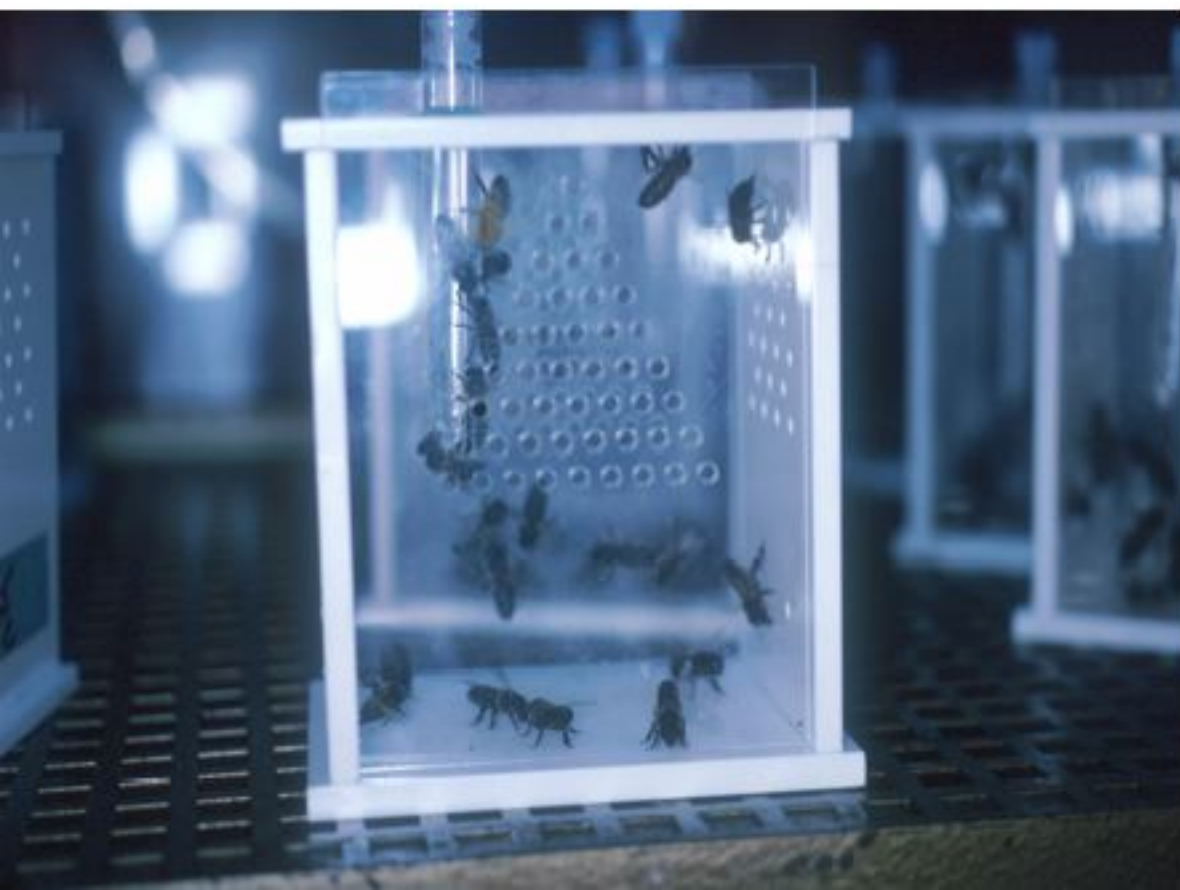
➤ Détermination de la toxicité chronique de l'imidaclopride

1 - Etudes toxicologiques

Evaluation des risques sur les abeilles

Tests en laboratoire

étude de la toxicité de l'imidaclopride et de ses métabolites



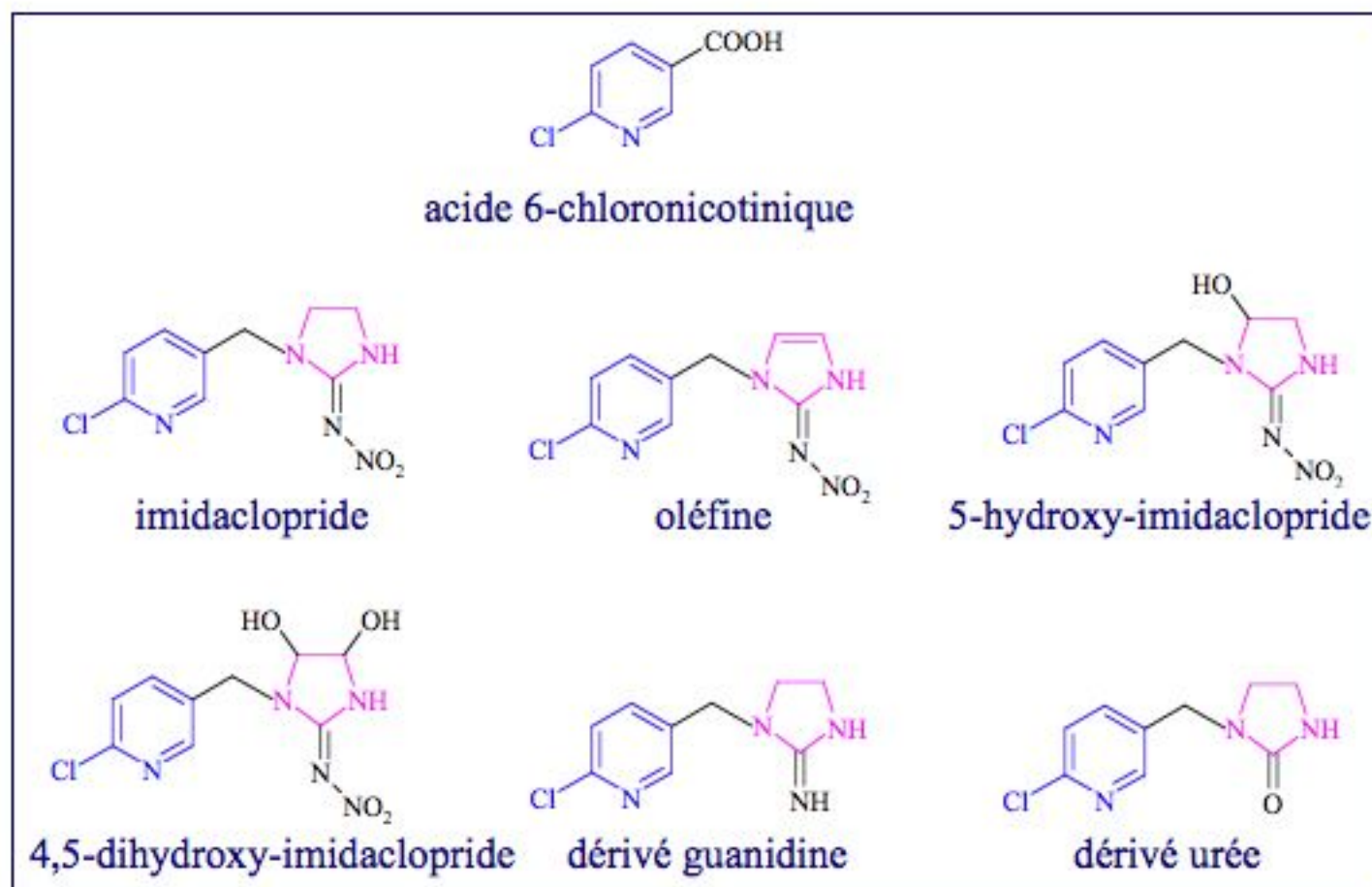
➤ $DL50 < 10 \text{ mg/kg}$

toxicité extrêmement élevée

➤ 5-hydroxy et oléfine métabolites

les plus toxiques

1 - Conclusion des études toxicologiques



2 - Métabolisation de l'imidaclopride dans l'abeille entière

Objectifs:

- déterminer la durée de vie de l'imidaclopride
- définir les cinétiques d'apparition du 5-hydroxy-imidaclopride et de l'oléfine

2 - Métabolisation de l'imidaclopride dans l'abeille entière

Protocole:

1- Extraction imidaclopride et métabolites:

- broyage de 2g d'abeilles dans méthanol/eau (1/3, v/v)
- extraction sur colonne ChemElut[®] avec du dichlorométhane
- solubilisation dans toluène/acétate d'éthyle, 85/15 et concentration
- rinçage extrait par colonne Bond Elu SI acétonitrile/H₂O, 5/1000
- solubilisation dans acétonitrile/H₂O (2/8, v/v) et concentration

2 - Métabolisation de l'imidaclopride dans l'abeille entière

Protocole:

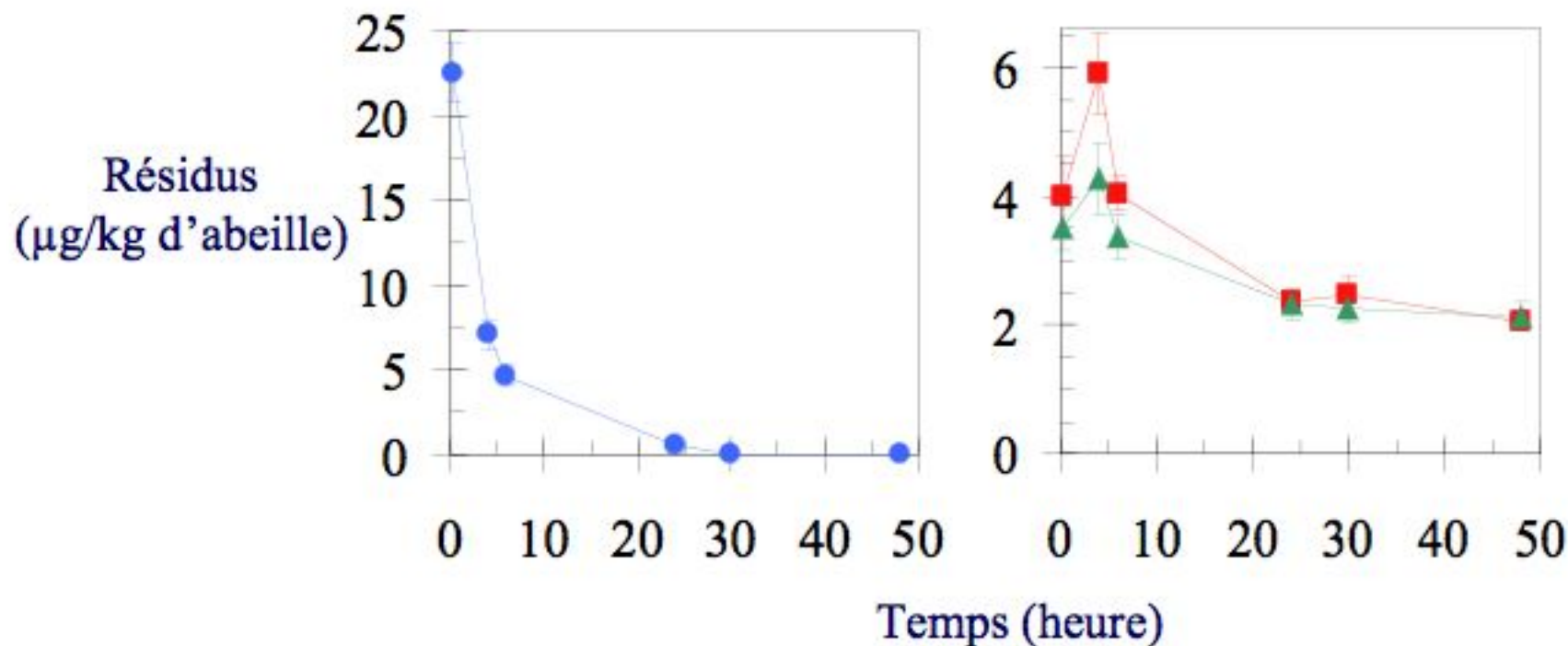
2- Analyse par HPLC/MS/MS

- Phenomenex luna C18 (2), 5 μ m
- Débit colonne 1ml/min, débit SM 0,15ml/min
- Phase mobile: acide acétique/acétonitrile
- Limite de quantification de 0,5 μ g/kg

2 - Métabolisation de l'imidaclopride dans l'abeille entière

50µg/kg

●: imidaclopride, ■: 5-hydroxy-imidaclopride, ▲: oléfine



2 - Métabolisation de l'imidaclopride dans l'abeille entière

Pourquoi 40% de résidus ne sont pas détectés ?

- Extraction partielle des résidus: **NON**
- Excrétion des résidus par les abeilles: **NON**
- Existence d'autres métabolites: **OUI**

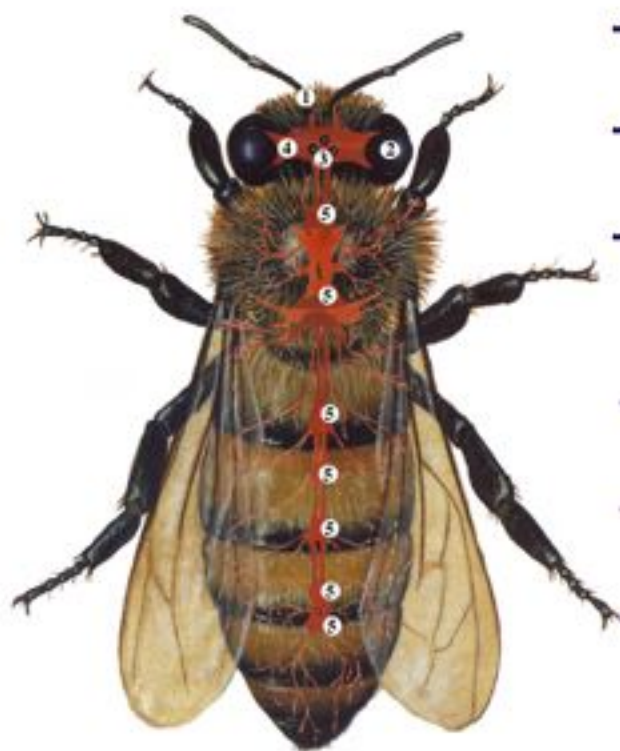
3 - Cinétique de distribution des métabolites dans différents compartiments biologiques

Objectifs:

- Caractériser tous les métabolites dans l'abeille
- Définir les voies métaboliques de l'imidaclopride
- Localiser l'imidaclopride et ses métabolites

3 - Cinétique de distribution des métabolites dans différents compartiments biologiques

Compartiments biologiques étudiés:



- Tête
 - Thorax
 - Abdomen
- } riches en récepteurs nicotiniques
- **Hémolymph**: distribution des résidus dans l'abeille
 - **Intestin**: métabolisation des toxiques
 - **Ampoule rectale**: stockage et excrétion des résidus

3 - Cinétique de distribution des métabolites dans différents compartiments biologiques

Protocole: Intoxication abeille 10 ng [^{14}C]-imid/ab

1- Extraction de l'imidaclopride et métabolites

- *hémolymph*: ajout de 4 vol. acétonitrile/ H_2O (2/1, v/v)
- *intestin et ampoule rectale*: solubilisation membranes, centrifugation, et ajout de 4 vol. acétonitrile/ H_2O (2/1, v/v)
- *tête, thorax et abdomen*: broyage dans acétonitrile/ H_2O (2/1, v/v) et centrifugation

Concentration de tous les extraits

3 - Cinétique de distribution des métabolites dans différents compartiments biologiques

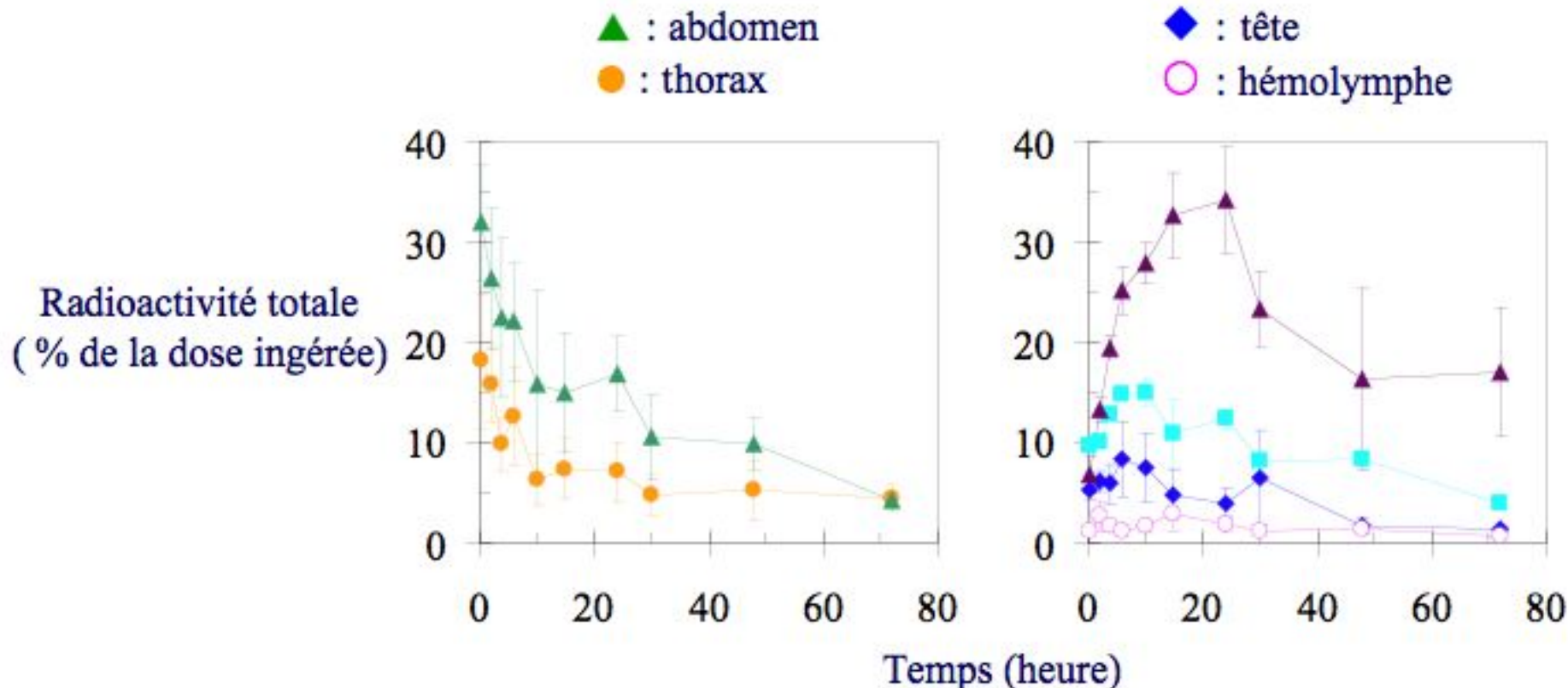
Protocole:

2- Séparation et identification par CCM

- développement sur 1D
- système de solvant: acétate d'éthyle/isopropanol/H₂O
(68/20/12, v/v)
- stockage 20 jours à 25°C
- identification par phospho imager

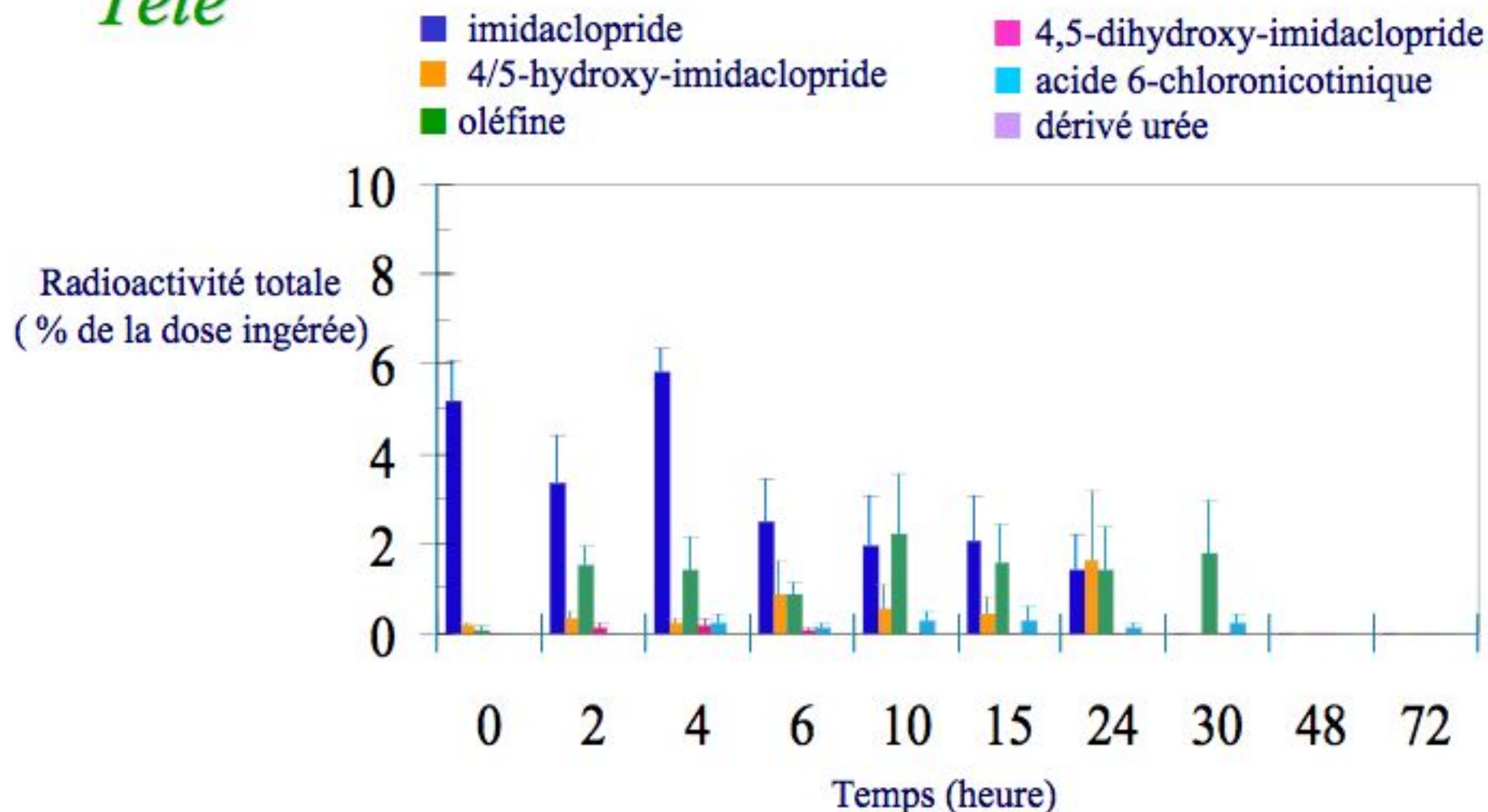
3 - Cinétique de distribution des métabolites dans différents compartiments biologiques

Radioactivité totale



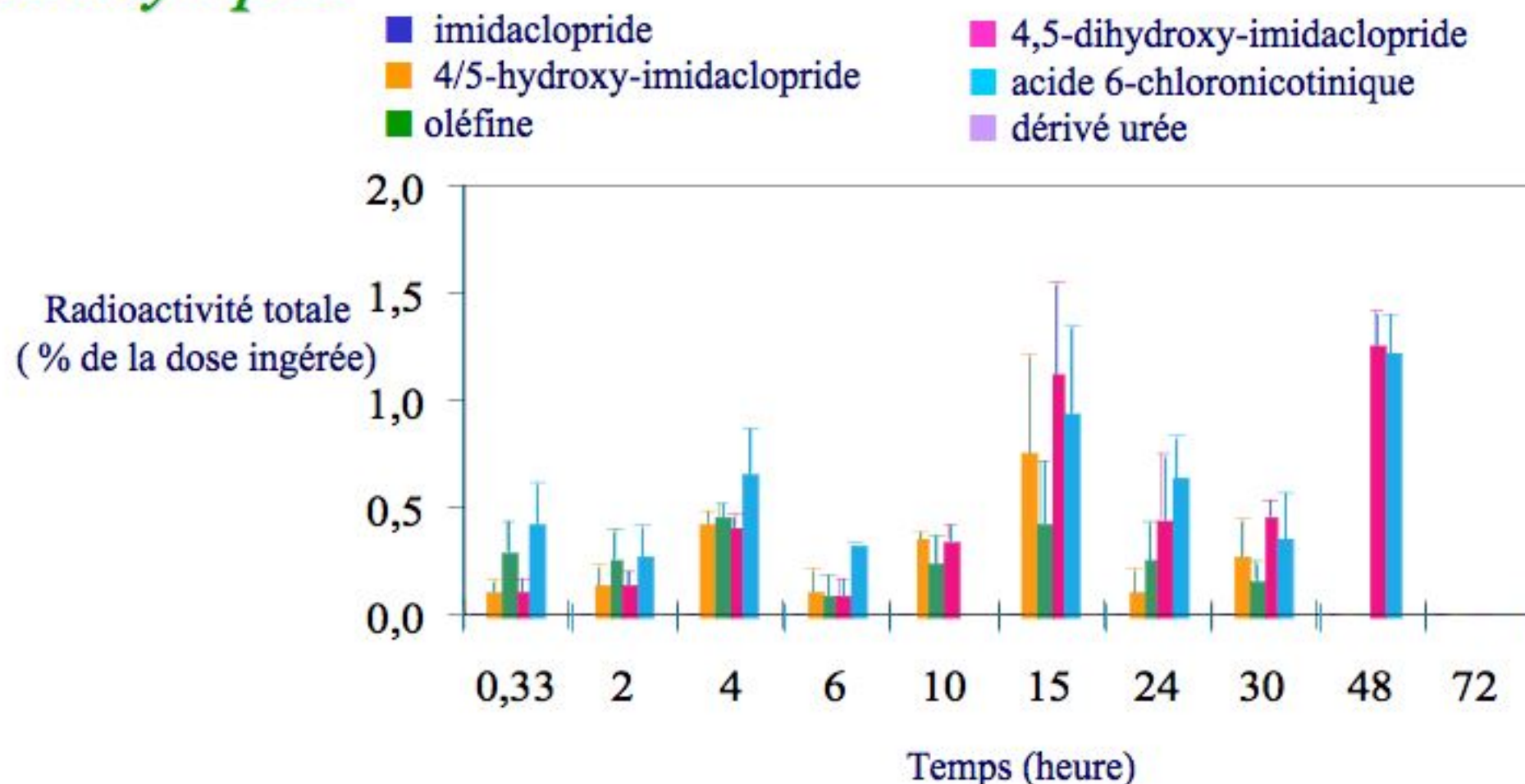
3 - Cinétique de distribution des métabolites dans différents compartiments biologiques

Tête



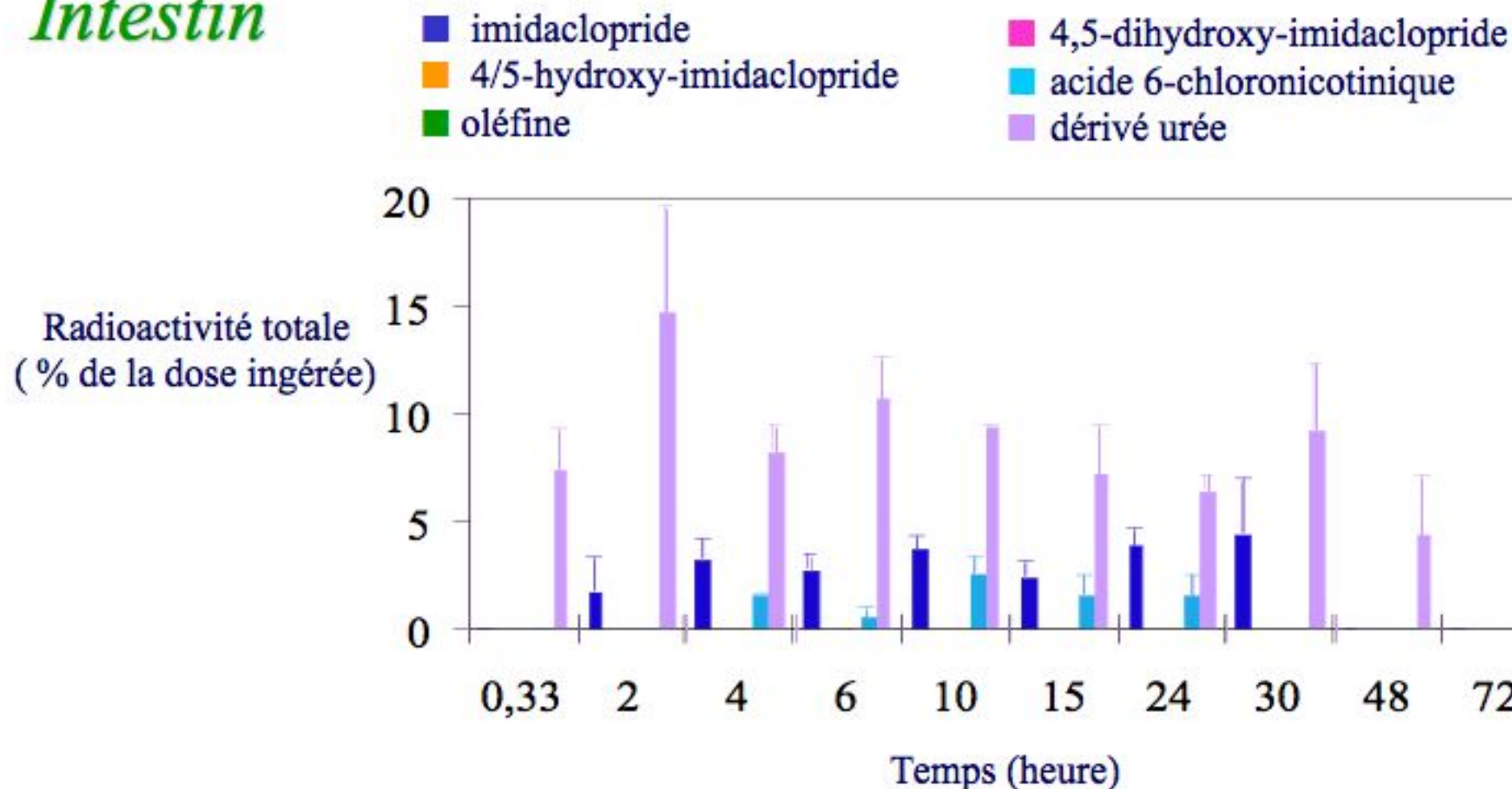
3 - Cinétique de distribution des métabolites dans différents compartiments biologiques

Hémolymph



3 - Cinétique de distribution des métabolites dans différents compartiments biologiques

Intestin

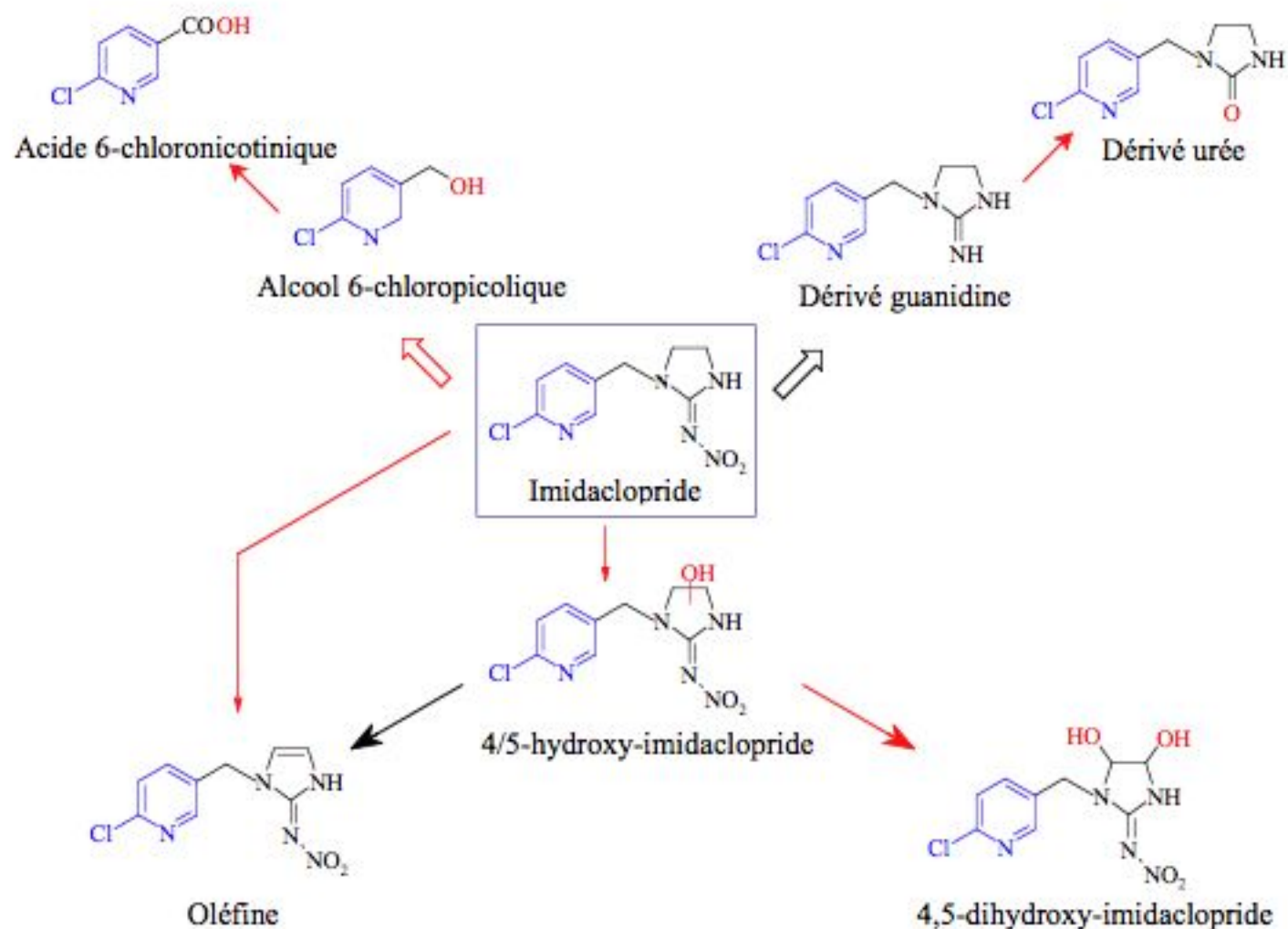


Conclusion des études métaboliques

- Distribution rapide de l'imidaclopride
- Persistance des résidus dans l'abeille
- Prépondérance du 5-hydroxy-imidaclopride et de l'oléfine dans tissus riches en récepteurs nicotiniques (tête, thorax , abdomen)

 **Existence d'un relais entre l'imidaclopride
et ses deux métabolites toxiques:
le 5-hydroxy-imidaclopride et l'oléfine**

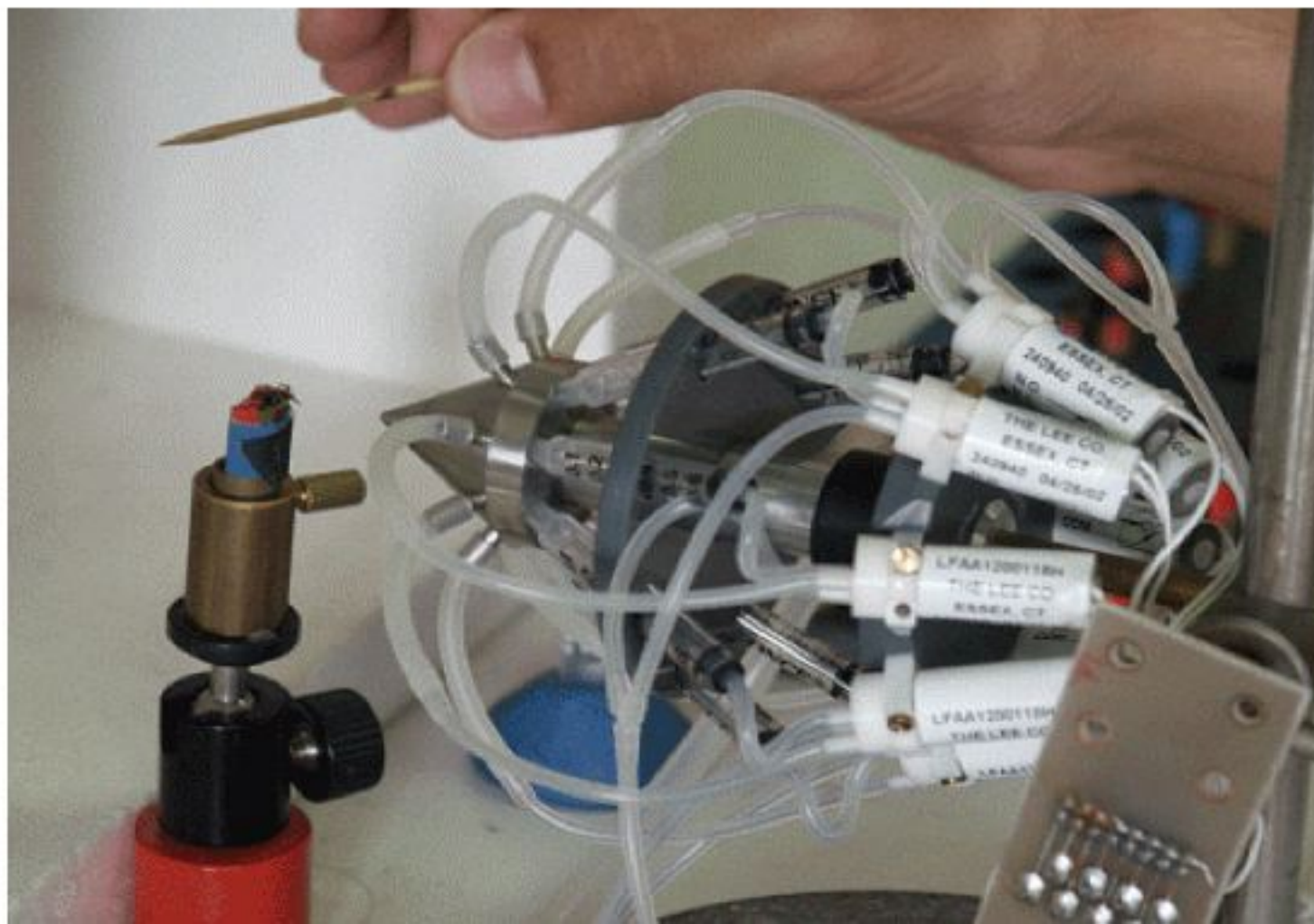
Profil métabolique de l'imidaclopride dans l'abeille



Autres risques écotoxicologiques évalués

Tests en laboratoire

- Etudes neurocomportementales: tests gustatifs et olfactifs



Autres risques écotoxicologiques évalués

Tests en laboratoire

Réflexe de l'extension du proboscis avec solution de saccharose



Problématique Gaucho® en France

- 1999:** - Retrait de l'AMM du Gaucho® sur tournesol
 - Demande d'une enquête épidémiologique
- 2000-2002:** - Régent TS® mis en cause
- 2003:** - Prolongation de 3 ans de l'interdiction du Gaucho®
 - problèmes récurrents Gaucho® et Régent TS®
- 2004:** - Suspension de l'usage du maïs traité Gaucho®
 - Traces de fipronil dans lait (fourrage traité Régent TS®)
 - ↳ suspension de commercialisation

Dernières actualités

28 avril 2006: Recours de BAYER CROPSCIENCE rejeté par le Conseil d'Etat

(recours visant à obtenir l'annulation du retrait du pesticide GAUCHO® sur maïs prononcé en juillet 2004 par le Ministère de l'Agriculture)

De nos jours imidaclopride encore utilisé:

- *Gauche*® : sur betteraves et céréales à paille (blé, orge : contamination du miellat ; rémanence dans les sols)
- *Confidor*® : sur les arbres fruitiers

