

This is an open-access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution License, which permits unrestricted use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original author(s) and source are credited.



ISSN:2161-0525

Journal of Environmental & Analytical Toxicology

The International Open Access
Journal of Environmental & Analytical Toxicology

Special Issue Title: Toxicology of Pesticides

Handling Editors

Francisco Sanchez Bayo
Australia

Richard ORTEGA
France

Available online at: OMICS Publishing Group (www.omicsonline.org)

This article was originally published in a journal published by OMICS Publishing Group, and the attached copy is provided by OMICS Publishing Group for the author's benefit and for the benefit of the author's institution, for commercial/research/educational use including without limitation use in instruction at your institution, sending it to specific colleagues that you know, and providing a copy to your institution's administrator.

All other uses, reproduction and distribution, including without limitation commercial reprints, selling or licensing copies or access, or posting on open internet sites, your personal or institution's website or repository, are requested to cite properly.

Digital Object Identifier: <http://dx.doi.org/10.4172/2161-0525.S4-001>

Dans le texte proposé, deux éminents toxicologues, doublés d'excellents mathématiciens, Henk A. TENNEKES hollandais, et Francisco SANCHEZ-BAYO australien, ont mis en commun leur compétence pour démontrer que les "Tests Standards", aujourd'hui en usage dans le domaine des travaux préalables à l'homologation des substances chimiques -en particulier des pesticides-, ne sont pas en mesure de définir des "niveaux sûrs d'exposition", tant pour les êtres humains que pour la biodiversité. Cette incapacité relève tant des points de vue "conceptuel que statistique". S'appuyant sur les travaux, anciens certes, de Haber d'une part, et de Druckrey (pharmacologue) et Küpfmüller (mathématicien) d'autre part, mais pourtant toujours d'une évidente actualité, ils démontrent d'un côté les failles des Tests Standards, de l'autre ils démontrent qu'un test, fondé sur une base conceptuelle et une pratique différentes, le test "Time-To-Event" ou TTE, "Temps-pour-un-Evènement", permet au contraire de prévoir les effets probables, au cours du temps, des substances sur les espèces non-cibles. Ainsi s'effondre le postulat (idéologique car jamais démontré) de l'innocuité des "faibles doses". Sous certaines conditions, résultant de l'interaction entre la substance et les récepteurs de l'organisme, plus le temps d'exposition s'allonge plus la dose totale reçue diminue pour produire un même effet. La substance est ainsi plus toxique à faible dose qu'à forte dose, le temps jouant ainsi un rôle majeur dans l'expression de la toxicité. Ce démenti scientifique formel, infligé au postulat "d'un seuil d'innocuité" des faibles doses, ouvrira-t-il les yeux des différentes Agences gouvernementales ? Si l'on souhaite assurer la sécurité des humains et l'avenir de la biodiversité il y a urgence !

Christian Pacteau

La TOXICITE DEPENDANTE du TEMPS des NEONICOTINOÏDES et d'AUTRES TOXIQUES
IMPLICATIONS pour une NOUVELLE APPROCHE de l'EVALUATION des RISQUES

Henk A. Tennekes* and Francisco Sánchez-Bayo – (Traduction Christian Pacteau)

Experimental Toxicology Services (ETS) Nederland BV, 7201 KN, Zutphen, The Netherlands, and Centre for Ecotoxicology, University of Technology Sydney, Lidcombe, NSW 4141, Australia

INTRODUCTION

Le but fondamental de la toxicologie est de déterminer des niveaux sûrs d'exposition à des substances toxiques potentielles pour les êtres humains et l'environnement [1]. Traditionnellement, les niveaux de sécurité ont été estimés en laboratoire par des bio-essais de toxicité en calculant le niveau d'absence d'effet observable (Non-Observable Effect Level, ou NOEL) dû à une exposition à une substance chimique pour une variété d'organismes lesquels sont représentatifs d'un certain taxon, i.e. mammifères, oiseaux, poissons, crustacés, algues, etc. Il y a, cependant, des problèmes fondamentaux de validité de cette approche, tant du point de vue conceptuel que statistique dans la nature, comme cela a été indiqué par Landis et Chapman [2] et d'autres auteurs [3]. Ainsi, le concept désuet de NOEL est-il en train d'être remplacé par celui de Niveau de Concentration sans Effet, No-Effect Concentration (NEC) Level [4], lequel suppose qu'une substance chimique n'a aucun effet sur une population d'organismes à de très basses concentrations.

Druckrey et Küpfmüller (un pharmacologue et un mathématicien NdT) [5] établissent que les processus suivants déterminent la relation complexe entre les niveaux d'exposition au poison et un effet toxique :

1. **Absorption, distribution, métabolisme et excrétion**, lesquelles déterminent la relation entre la dose et la concentration de poison au site d'action et sa progression au cours du temps dans différentes parties du corps, communément désignée sous le terme de pharmacocinétique. Une relation linéaire entre la dose et l'effet exigerait une proportionnalité entre la dose (où la concentration dans le milieu) et la concentration du poison au site d'action. Ce peut être le cas pour beaucoup de poisons pour aussi longtemps que le poison n'a pas d'influence pharmacocinétique dans la gamme des doses considérées ;
2. **L'interaction avec les récepteurs critiques**, laquelle détermine la relation entre la concentration de poison au site d'action et la liaison au récepteur. Une relation linéaire entre dose et effet exigerait une proportionnalité entre la concentration de poison au site d'action et la concentration aux récepteurs liés. Ceci est seulement le cas, comme il le sera montré dans la section 2, quand une proportion de récepteurs liés suffisante pour un effet est relativement petite comparée au niveau initial de récepteurs ; et
3. **La liaison au récepteur**, laquelle détermine la relation entre la concentration des récepteurs liés et l'effet biologique réel. Une relation linéaire entre la dose et l'effet exigerait la proportionnalité entre la proportion relative de récepteurs liés et l'effet biologique réel.

La pharmacocinétique de la plupart des pesticides est bien connue pour avoir été le sujet d'intenses recherches dans les décades récentes. Par exemple, la cinétique des inhibiteurs d'acétylcholinestérase des pesticides Carbamates et organophosphorés fut décrite il y a longtemps, et peut être trouvée dans la plupart des livres de toxicologie classiques (e.g. [6]). L'interaction biochimique entre ces insecticides et leur enzyme cible (acétylcholinestérase), en parallèle avec la cinétique de l'absorption, est à la base du modèle du mécanisme de toxicité tel que DEBtox [7]. D'une manière similaire, la cinétique des substances chimiques narcotiques a été décrite par des modèles lesquels considèrent leur absorption au cours du temps et leur bioconcentration par les poissons [8].

Dans cette revue, nous mettrons l'accent sur la relation entre la concentration de poison au site d'action et l'effet biologique réel, lequel a

été appelé par Druckrey *ergocinétique* (Druckrey, communication personnelle avec Tennekes, 1985) (*ergo* = travail, *cinétique* = mouvement NdT). La raison de cela est que les développements récents en écotoxicologie suggèrent que certains toxiques peuvent produire des effets à n'importe quel niveau de concentration à condition que le temps d'exposition soit suffisamment long [9]. Ceci veut dire que le concept de NEC ne peut être appliqué pour ces toxiques quand la durée de vie des organismes affectés est plus longue que le temps maximum d'exposition théorique. En conséquence, l'évaluation du risque de ces substances chimiques, lesquelles incluent des insecticides néonicotinoïdes et certains composés métalliques, peuvent exiger des approches entièrement nouvelles.

Modèle conceptuel pour des effets toxiques incluant le temps

Dans leur livre *Dosis und wirkung* (dose et réponse) [5], Druckrey et Küpfmüller ont analysé en termes mathématiques l'ergocinétique, leur raisonnement conduit à des conclusions fondamentalement importantes sur les effets causés par l'interaction de poison avec les récepteurs critiques, lesquelles conclusions sont hautement pertinentes pour l'évaluation du risque toxicologique.

Notant la concentration initiale de récepteurs critiques réagissant au poison R_0 , la concentration de récepteurs où un poison a réagi C_R , et la concentration de poison au site d'action C , la vitesse de liaison aux récepteurs (association) est :

$$K C (R_0 - C_R) \quad (1)$$

où K est la constante de réaction pour l'association. La vitesse de dissociation des récepteurs liés est :

$$C_R / T_R \quad (2)$$

où T_R est le temps constant pour la dissociation. Par conséquent, les réactions cinétiques de la liaison au récepteur dans le cas d'une réaction bimoléculaire, sont :

$$dC_R / dt = K C (R_0 - C_R) - C_R / T_R \quad (3)$$

si l'effet apparaît dans des circonstances telles que $C_R \ll R_0$, i.e., avec une cinétique de premier ordre, R reste pratiquement constant dans ce cas :

$$K (R_0 - C_R) = 1 / T_A \quad (4)$$

*Corresponding author: Henk A. Tennekes, Experimental Toxicology Services (ETS) Nederland BV, Frankensteeg 4, 7201 KN, Zutphen, The Netherlands, Tel:

+31 575 545 500; Fax: +31 575 516 717; E-mail: info@toxicology.nl

Received November 14, 2011; Accepted December 05, 2011; Published December 07, 2011

Citation: Tennekes HA, Sánchez-Bayo F (2011) Time-Dependent Toxicity of Neonicotinoids and Other Toxicants: Implications for a New Approach to Risk Assessment. J Environment Analytic Toxicol S4:001. doi:10.4172/2161-0525.S4-001

Copyright: © 2011 Tennekes HA, et al. This is an open-access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution License, which permits unrestricted use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original author and source are credited.

où T_A peut être regardé comme la constante de durée d'association. L'équation (3) se simplifie ainsi :

$$dC_R/dt = C/T_A - C_R/T_R \quad (5)$$

à l'équilibre, quand $dC_R/dt = 0$, l'équation (5) se simplifie en :

$$C_R = C (T_R / T_A) \quad (6)$$

en remplaçant la concentration des récepteurs liés C_R par la concentration relative de récepteurs liés C_R/R_0 , nous obtenons :

$$C_R / R_0 = (C / R_0) \cdot (T_R / T_A) \quad (7)$$

Cette expression indique que, avec une cinétique de premier ordre, i.e. quand $C_R \ll R_0$, la proportion de récepteurs liés est dépendante de la concentration du poison dans le corps de l'organisme (dose d'exposition) et de la durée relative pour l'association et la dissociation (durée d'exposition). En se basant sur ce raisonnement, Druckrey et Küpfmüller tirent les conclusions suivantes pour tout poison qui interagit avec les récepteurs spécifiques dans une réaction bimoléculaire de premier ordre où l'effet toxique est déterminé par la concentration relative aux récepteurs liés C_R / R_0 .

. L'effet est proportionnel à la concentration de poison au site d'action C (Paracelse)

. L'effet est inversement proportionnel à R_0 . Si la concentration des récepteurs spécifiques R_0 est basse, le poison peut induire une toxicité prononcée à de très basses concentrations au site d'action C.

. L'effet est proportionnel à T_R/T_A , i.e., au quotient de la constante de temps de dissociation T_R et de la constante de temps d'association T_A .

. Si T_R/T_A est élevé, le poison peut induire une toxicité prononcée à de très basses concentrations au site d'action C.

. Si $T_R/T_A < 1$, le composé est inoffensif et peut seulement induire une toxicité à des concentrations relativement élevées au site d'action C.

. Si les deux constantes de durée (T_R/T_A) sont basses, i.e. quand les deux, association et dissociation, sont des processus rapides, un équilibre entre C et les récepteurs liés (et l'effet) sera établi rapidement mais l'effet toxique régressera aussi rapidement.

. Le caractère de poison est déterminé principalement par T_R , i.e. la constante de temps de dissociation aux récepteurs liés.

. Si T_R est bas, i.e. quand la liaison au récepteur est rapidement réversible, le développement de l'effet sera le même que le développement en C, et le maximum d'effets apparaîtra quand C est à son maximum. Dans ces circonstances, il y aura une relation linéaire entre effet et la concentration actuelle de poison au site d'action C, et entre dose et effet, à condition que C soit proportionnelle à la dose (ou à la concentration dans le milieu). De tels poisons peuvent être ainsi qualifiés de « *poisons-concentration* ». La valeur de T_A déterminera seulement la fraction de poison qui réagit avec les récepteurs spécifiques R.

. Si la constante de temps de dissociation T_R est élevée, i.e. quand la liaison au récepteur est seulement lentement réversible, le temps pour obtenir l'effet maximum peut être retardé, et l'effet toxique peut être seulement lentement réversible. Plus élevé est T_R , plus long est le temps pour l'effet maximum. Sous des conditions d'expositions répétées en succession rapide pourront apparaître des effets cumulatifs. De tels poisons peuvent être ainsi qualifiés de « *poisons-cumulatifs* ». Avec les poisons cumulatifs, une relation quantitative ou même linéaire entre l'effet et la concentration actuelle de poison au site d'action C, comme cela a été vu avec les poisons-concentrations, n'existera pas. Parce qu'un équilibre entre C et des récepteurs liés (et l'effet) sera établi très lentement, la toxicité devient un processus qui prend place dans le temps. Il y

aura un temps de latence pour obtenir un effet défini, durée qui peut être raccourcie, naturellement, en accroissant la concentration de poison au site d'action C.

Ainsi, en accord avec Druckrey et Küpfmüller, dépendante de la constante du temps de dissociation T_R , la toxicité d'un composé peut devenir un processus qui prend place dans le temps. L'approche traditionnelle des tests de toxicité est de tester la relation dose – effet (ou *concentration - effet*) à des durées d'exposition fixées arbitrairement lesquelles sont supposées refléter les effets de toxicité aiguë ou chronique pour n'importe quelle durée. Cette approche malheureusement ne mesure que la proportion de tous les individus exposés répondant « *avant la fin* » (Souligné par CP) de la durée spécifiée d'exposition. Les bases de données toxicologiques établies de cette manière sont ainsi des collections de valeurs de critères d'évaluation obtenues pour des durées fixes d'exposition. Comme telles, ces valeurs ne peuvent être liées pour faire des prédictions pour une large gamme d'expositions rencontrée par les humains ou dans l'environnement. Ainsi, comme il sera démontré dans ce papier, actuellement l'évaluation des risques toxicologiques peut être compromise par cette approche de tests de toxicité car elle conduit à de sérieuses sous-estimations des risques réels.

Les effets toxiques impliquant la durée d'exposition

Afin de surmonter ce handicap, un nombre croissant de recherches utilise une variante du protocole traditionnel de test de toxicité laquelle inclut la méthode du « temps-pour-un-événement » (Time To Event, ou TTE). Cette approche par le TTE mesure les temps de réponse pour tous les individus, et fournit ainsi une information sur les doses requises aussi bien que sur le temps d'exposition nécessaires pour un composé toxique pour produire n'importe quel niveau d'effet sur les organismes testés [10]. En conséquence, les extrapolations et les prédictions des effets toxiques pour n'importe quelle combinaison de concentration et de durée sont maintenant possibles [11]. Nous démontrerons que cette approche est supérieure aux procédures actuelles de tests toxicologiques, et qu'elle a d'importantes implications dans le domaine de l'évaluation des risques des substances chimiques.

Ci-dessous le modèle conceptuel élaboré par Druckrey et Küpfmüller, si la liaison au récepteur est pratiquement irréversible, $T_R \rightarrow \infty$ l'équation (3) se réduit à :

$$dC_R/dt = K C (R_0 - C_R) \quad (8)$$

si l'effet toxique apparaît quand $C_R \ll R_0$, alors :

$$dC_R/dt = K R_0 C \quad (9)$$

si une dose est maintenue constante tout au long de l'étude et, par conséquent, C reste une constante l'intégration conduit à :

$$C_R = K R_0 C t \quad (10)$$

Ce raisonnement de Druckrey et Küpfmüller fournit une explication théorique à la règle de Haber [12]. La règle de Haber (pour une revue, voir [13]) établit que le produit de la concentration d'exposition par la durée d'exposition produit un effet toxique constant. Haber avait noté que l'exposition à une basse concentration de gaz poison avait souvent, sur une longue durée, le même effet (la mort) qu'une exposition à concentration élevée sur une durée courte. Les résultats de cette étude novatrice de Druckrey sur la carcinogénicité du 4-diméthylaminoazobenzène (4-DAB) in BDIII rats [14] étaient cohérents avec la règle de Haber : doublant la dose quotidienne du 4-DAB, et sans doute en doublant ainsi la concentration des carcinogènes au site d'action on devait ainsi réduire la moitié du temps pour obtenir l'apparition du cancer du foie.

Dans les années 1960 la biologie moléculaire de cet effet carcinogène fut élucidée et confirma le théorème de Druckrey et Küpfmüller. L'ADN fut reconnu par Brookes [15] comme la cible pour les substances chimiques carcinogènes, comme cela a été récemment déduit par Wunderlich [16],

Warwick et Roberts qui ont confirmé la liaison irréversible avec le récepteur en démontrant la liaison covalente du métabolite 4-DAB avec l'ADN [17].

Il est maintenant apparent que la règle de Haber est hautement pertinente pour l'évaluation des risques écotoxicologiques également. Elle a été récemment utilisée pour décrire la toxicité de l'insecticide imidaclopride néonicotinoïde chez le moucheron *Chironomus tentans* [18]. Le produit de la concentration d'exposition par la durée d'exposition pour 50 % de mortalité pour *C. tentans* était très similaire sous des conditions d'exposition soit aiguë soit chronique. Ces observations ont aussi confirmé le théorème de Druckrey et Küpfmüller et la règle de Haber. Abbink, quand le composé a été introduit pour la première fois, a certifié en 1991 que « l'imidaclopride était le premier insecticide hautement efficace dont la modalité d'action dérive d'un presque complet et pratiquement irréversible blocage des récepteurs post-synaptiques nicotinniques de l'acétylcholine (nAChRs) dans le système nerveux central des insectes » [19]. L'imidaclopride mime l'action de l'acétylcholine, mais contrairement à l'acétylcholine, l'imidaclopride n'est pas désactivé par l'acétylcholinestérase il active donc ainsi en permanence les nAChRs [20]. L'exposition chronique des insectes à l'imidaclopride conduit donc à un blocage cumulatif quasi irréversible du nAChRs dans leur système nerveux central, lequel joue un rôle dans de nombreux processus cognitifs.

La durée d'exposition renforce les effets toxiques

Bien que l'équation (10) fournisse une explication théorique pour la règle de Haber, elle suppose une proportionnalité entre la concentration des récepteurs liés C_R et l'effet. Ceci peut ne pas être toujours le cas. Comme mentionné précédemment, Druckrey et Küpfmüller avait souligné que la relation entre la concentration de poison au site d'action C et l'effet E inclut au moins 2 étapes : la première est l'interaction du poison avec les récepteurs critiques supports de la liaison aux récepteurs, la seconde l'effet biologique subséquent résultant des liaisons aux récepteurs. Comme nous l'avons vu ci-dessus, si la liaison aux récepteurs est pratiquement irréversible (i.e. $T_R \rightarrow \infty$), la concentration aux récepteurs liés C_R est proportionnelle à l'intégrale de C au cours du temps.

$$C_R \sim \int C dt \quad (11)$$

si l'effet subséquent est irréversible également (e.g. la mort) l'effet E est proportionnel à l'intégrale de la concentration des récepteurs liés C_R au cours du temps :

$$E \sim \int C_R dt \quad (12)$$

dans les cas d'une liaison irréversible aux récepteurs et d'effets irréversibles, l'effet E est ainsi proportionnel à la double intégrale de la concentration du poison au site d'action C au cours du temps, comme la combinaison des équations (11) et (12) le montre :

$$E \sim \iint C dt \quad (13)$$

Ceci implique que la durée d'exposition renforcera l'effet. Le renforcement de l'effet par la durée d'exposition était subséquent démontrée par Druckrey et ses collaborateurs avec les études de benchmark de production de carcinomes du conduit auditif et du foie par le 4-diméthylaminostilbène (4-DAST) [21] et le diéthylnitrosamine (DNA) [22], respectivement, in BDII rats (Tableau 1).

La dose totale de carcinogènes décroît avec les niveaux de dose journalière du 4-DAST ou du DNA, même si le temps médian d'induction des tumeurs augmente avec la diminution des niveaux de dose quotidienne. Dans un système de coordonnées logarithmiques, il y a une relation linéaire entre le temps médian d'induction des tumeurs (t_{50}) et la dose journalière (d) :

$$\ln d = \ln k - n \ln t_{50} \quad (14)$$

ou bien

$$d t_{50}^n = \text{constante} \quad (15)$$

où l'exposant du temps n était respectivement de 3.0 et 2.3 pour le 4-DAST et DNA.

L'essence de l'équation (15) réside dans le constat que la dose totale requise pour produire un même effet décroît avec la décroissance des niveaux d'exposition, même si les temps d'exposition requis pour produire le même effet s'accroissent avec la décroissance des niveaux d'expositions. Ainsi, il devrait être possible, en principe, d'induire un cancer avec une simple dose d'un carcinogène chimique. En fait, cette hypothèse fut vérifiée par Druckrey et al. [23] dans des expériences à dose unique avec l'action directe d'éthylation du nitrosamide N-nitroso-N-éthylurea (ENU) dans BD IX rats. Ce carcinogène est rapidement perdu après l'injection intraveineuse ; il a *in vivo* une demi-vie de 5-6 minutes.

Après un traitement à dose unique en début de vie (1, 10 ou 30 jours après la naissance), l'écrasante majorité des animaux est morte de tumeur maligne du système nerveux [23]. La relation quantitative (Figure 1), entre l'âge auquel est effectué le traitement (post-conception) (a), la dose (d) et la médiane des périodes d'induction des tumeurs malignes neurologiques, peut être décrite comme suit [24] :

$$a / t_{50} = K d^f \quad (16)$$

Chemical	Daily dose, d (mg kg ⁻¹)	Median tumor induction time, t (days)	Total dose, D (mg kg ⁻¹)	n
4-DAST	3.4	250	850	3.0
	2.0	340	680	
	1.0	407	407	
	0.5	550	275	
	0.28	607	170	
	0.2	700	140	
	0.1	900	90	
	DENA	9.6	101	
4.8	137	660		
2.4	192	460		
1.2	238	285		
0.6	355	213		
0.3	457	137		
0.15	609	91		
0.075	840	64		

Tableau 1 : induction dans le conduit auditif in BDII rats par le 4-DAST et du carcinome du foie par DNA, d'après Druckrey et Dischler [21], et Druckrey et al. [22].

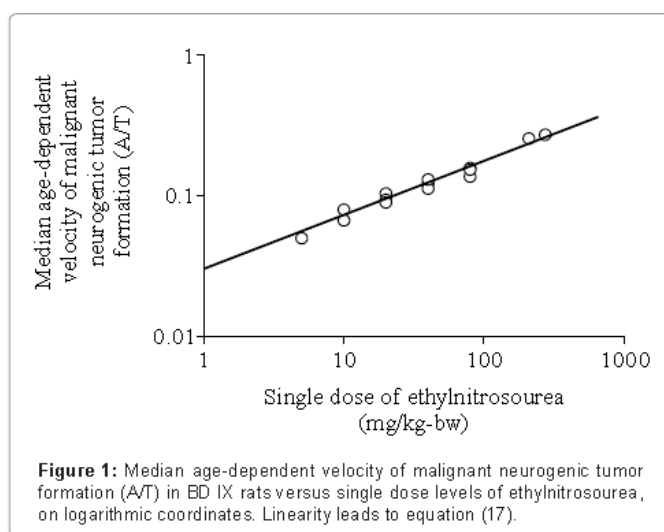


Figure 1: Median age-dependent velocity of malignant neurogenic tumor formation (A/T) in BD IX rats versus single dose levels of ethylnitrosourea, on logarithmic coordinates. Linearity leads to equation (17).

avec $K = \text{constante}$, où $r = 0.426$

où

$$d(t50/a)^n = \text{constante} \quad (17)$$

où $n = 1/r = 2,35$

L'équation (17) indique que, dans ce cas, la vitesse de la carcinogenèse est déterminée par la dose initiatrice de la carcinogenèse et l'état des cibles appropriées aux traitements. Ceci n'est pas sans rappeler la loi de Wilder des valeurs initiales, qui stipule que la direction de la réponse de la fonction du corps à quelques agents que ce soit dépend dans une large mesure du niveau initial de cette fonction. Les cellules cibles pour ENU en début de vie seront les cellules sous-épithéliales dans le cerveau et les cellules sous-piales dans la moelle épinière, qui sont destinées à se différencier en cellules gliales, c'est-à-dire les astrocytes ou les oligodendrocytes. Les expériences suggèrent que les changements génétiques critiques induits par le carcinogène dans les cellules cibles conduisent à inhiber les processus de différenciation normale des cellules, comme il a été observé dans la leucémogénèse [25, 26]. Yuspa et Morgan ont rapporté que les cellules résistantes à la différenciation terminale peuvent être facilement isolées de la peau de souris BALB/c exposées à une dose initiale de carcinogène *in vivo* mais pas de la peau des souris de contrôle [27].

Application du modèle de Druckrey et Küpfmüller

Les carcinogènes génétiques

L'équation de Druckrey et Küpfmüller (15) peut servir de base pour l'évaluation du risque des carcinogènes. Calborg souligne que cette équation est employée par le modèle Weibull pour les fonctions dose-réponse dans le domaine de la carcinogenèse [28]. La forme simple du modèle Weibull est une courbe sigmoïde définie par quatre paramètres :

$$P = 1 - e^{-\exp}, \text{ avec l'exposant} = -(\alpha + \beta x m) \quad (18)$$

où x est la dose, P le taux de tumeur et m , α , β , selon des paramètres estimés à partir des données. Le paramètre α est déterminé par la probabilité du niveau de fond de la tumeur, β est l'échelle des paramètres relatifs à l'unité de mesure de la dose, et m le paramètre important de forme. À de très basses doses l'excès de risque au dessus du niveau de fond du risque est approximativement βx^m . La dose de sécurité virtuelle (VSD) correspondant à un risque supplémentaire par million au-dessus de ce risque de fond est donnée par l'équation :

$$\text{VSD} = (10^{-6} / \beta)^{1/m} \quad (19)$$

la forme étendue du modèle de Weibull inclut le temps pour l'apparition d'une tumeur (t) :

$$P = 1 - e^{-\exp}, \text{ avec pour exposant} = -(\alpha + \beta x m) t^k \quad (20)$$

où k est un nouveau paramètre. Maintenant supposons que t mesure le temps d'apparition d'une tumeur. Supposons également que le taux du risque de fond d'une tumeur est zéro ($\alpha = 0$). Pour un groupe testé à une certaine dose x , considérons le temps médian d'apparition d'une tumeur $t50$ - qui est la valeur de t telle que $P = 0,50$. Le modèle étendu de Weibull pour cette dose et durée est :

$$0.50 = 1 - e^{-\exp}, \text{ avec l'exposant} = -\beta x^m t50^k \quad (21)$$

Cette équation se réduit à :

$$[-\ln 0.50 / \beta]^{1/m} = x t50^{k/m} = x t50^n \quad (22)$$

où $n = k/m$ et le côté gauche de l'équation est une constante. Ceci est l'équation de Druckrey et Küpfmüller (15). L'exposant n est donné par la

courbe de régression entre les deux logarithmes des doses et celui de la médiane du temps pour l'apparition des tumeurs.

Les insecticides néonicotinoïdes

Des relations similaires ont été démontrées pour la toxicité des insecticides néonicotinoïdes chez les invertébrés aquatiques, en particulier pour l'imidaclopride chez un ostracode des eaux fraîches *Cypridopsis vidua* et aussi chez *Daphnia magna* et pour le thiaclopride chez le *Gammarus* et le *Sympétrum*. Sánchez-Bayo [29] a démontré que la relation des insecticides néonicotinoïdes imidaclopride et thiaclopride dans le milieu (C) et le temps pour une mortalité de 50% (t50) de plusieurs espèces d'arthropodes exposés suivait une courbe hyperbolique décrite par l'équation :

$$t50 = a \cdot C^{-b} \quad (23)$$

En conséquence, il y avait une relation linéaire quand les logarithmes des variables C et t étaient utilisés

$$\ln t50 = a' - b \ln C \quad (24)$$

où a' est l'intersection et b est la pente de régression. L'équation (24) peut être transformée en :

$$C^b t50 = \text{constante} \quad (25)$$

ou bien

$$C t50^{1/b} = \text{constante} \quad (26)$$

L'équation (26) est très similaire à l'équation de Druckrey et Küpfmüller (15) pour l'action de carcinogènes chimiques tels que DENA ou 4-DAST.

Similaire aux doses-réponses caractéristiques de DENA, le temps d'exposition renforce la toxicité de l'imidaclopride et du thiaclopride chez les espèces d'arthropodes testées - Beketov et Liess [30] ont fait référence à cette fonctionnalité des néonicotinoïdes comme ayant des « effets retardés » -. Le produit $C t50$, lequel reflète la dose totale requise pour un effet létal, décroît avec la décroissance de la concentration du toxique (tableau 2), même si la durée pour obtenir une mortalité de 50 %, t50, s'accroît avec la décroissance de la concentration C du toxique.

Ce comportement toxique des insecticides néonicotinoïdes a aussi été souligné par d'autres recherches. Par exemple, Suchail et al. [31] notèrent qu'à des concentrations de 0,1, 1, et 10 µg/l, le total cumulé des doses ingérées par les abeilles dans une intoxication chronique était autour de 60 à 6 000 fois plus basses que les doses nécessaires pour produire le même effet dans des tests d'intoxication aiguë. Le même effet fut aussi manifeste avec deux des métabolites de l'imidaclopride (5-hydroxyimidaclopride et oléfin). Bien que, dans le cas de l'imidaclopride, les auteurs ne pouvaient pas expliquer les écarts énormes entre les résultats à partir des tests de toxicité aiguë et leurs effets à partir de l'alimentation des abeilles, leurs observations furent en cohérence avec le modèle dose-durée décrit ici. En conséquence, une compréhension correcte de l'ergocinétique de l'imidaclopride est essentielle pour l'évaluation des risques en relation avec les abeilles. De plus, des doses sublétales d'imidaclopride peuvent altérer le butinage et l'apprentissage des abeilles [32 - 35]. Quand l'imidaclopride était détecté à des niveaux de 5,7 µg kg⁻¹ dans des ruches françaises [36] les butineuses réduisaient leurs visites aux réservoirs de sirop (*expériences en tunnel* NdT) quand elles étaient contaminées par 3 µg kg⁻¹ d'imidaclopride [37]. Les butineuses aussi bien que les abeilles ouvrières de la ruche et le couvain sont susceptibles d'être continuellement exposés à de l'imidaclopride quand de la nourriture contaminée est collectée et est stockée à l'intérieur de la ruche [38]. Une abeille durant un vol de butinage peut apprendre et mémoriser de nombreux motifs complexes [39, 40]. Ces fonctions cognitives peuvent être altérées quand nAChRs, nécessaire pour la formation de la mémoire à long terme et impliqué dans l'acquisition de processus de récupération, est de manière persistante, bloqué [41]. Ces observations sont cohérentes avec le théorème de Druckrey et Küpfmüller [5]. Dans le même temps la liaison au récepteur et l'effet de la liaison aux récepteurs sont pratiquement irréversibles, le temps d'exposition renforcera ainsi l'effet, lequel peut au cours du temps être préjudiciable à la colonie d'abeilles, et en définitive, être la cause de l'effondrement de la colonie.

Species	Chemical	Concentration (C) in $\mu\text{g L}^{-1}$	Time to 50% mortality (T50) in days	C x T50 product in $\mu\text{g L}^{-1} \cdot \text{days}$	n
<i>Cypridopsis vidua</i>	Imidacloprid	4	5.2	20.8	4.67
		16	3.0	48	
		64	3.3	211.2	
		250	2.3	575	
		1 000	2.0	2 000	
<i>Daphnia magna</i>	Imidacloprid	4 000	0.9	3 600	1.35
		250	384.7	96 175	
		750	69.7	52 275	
		2 220	18.6	41 292	
		6 700	15.0	100 500	
<i>Gammarus pulex</i>	Thiacloprid*	20 000	18.4	368 000	1.11
		60 000	3.0	180 000	
		99	63.6	6 296.4	
		364	16.7	6 078.8	
		988	6.5	6 422	
<i>Sympetrum striolatum</i>	Thiacloprid*	3 100	3.2	9 920	1.53
		9 520	0.9	8 568	
		7.2	20.6	148.3	
		8.0	17.2	137.6	
		12.7	13.0	165.1	
		113.3	3.2	362.6	

*Données d'origine d'après Beketov et Liess [30]

Tableau 2: Mortalité des arthropodes induite par les insecticides néonicotinoïdes (D'après Sánchez-Bayo [29]). Les résultats suivent l'équation $C \times T50^n = \text{constante}$.

Ainsi, de basses concentrations environnementales de ces insecticides (qui ne peuvent pas être responsables d'une toxicité aiguë) pourraient être préjudiciables à beaucoup d'espèces d'invertébrés dans le milieu naturel à long terme, en particulier pour les invertébrés aquatiques parce que ces composés sont assez solubles dans l'eau et que leur toxicité peut être renforcée par la durée d'exposition. Ainsi, l'imidaclopride appliquée sur du riz en mésocosme élimina toutes les espèces du zooplancton pour au moins 2 mois quand la concentration était au-dessus de $1 \mu\text{g l}^{-1}$ [42], laquelle est de 500 et 75 000 fois plus basse que sa CL50 aiguë pour les ostracodes et les cladocères. En contraste, l'insecticide fipronil appliqué dans le même mésocosme produit seulement de petits et non significatifs effets défavorables sur zooplancton, même si cet insecticide est de 100 à 1000 fois plus toxique pour ces organismes que l'imidaclopride et plus persistant dans le sol [43]. Les éphémères du genre *Baetis* et *Epeorus* montrèrent une réduction du succès reproductif lorsqu'elles furent exposées à des concentrations d'imidaclopride aussi basses que 100 ng l^{-1} [44]; s'il s'agit là du résultat de l'effet du temps d'exposition ou bien d'effets sublétaux n'est cependant pas clair. Il résultait ainsi d'une seule contamination d'un mésocosme par l'insecticide néonicotinoïde thiaclopride une altération à long terme de toute la structure de la communauté d'invertébrés parce que certaines espèces ne pouvaient pas récupérer [45]. Une espèce, *Nemoura cinerea*, fut affectée à la plus basse concentration testée, 70 fois en dessous la plus basse CL50 connue. L'imidaclopride peut être appliqué comme un insecticide systémique par injection directe dans la tige ou par injection dans le sol ou par arrosage, dans ce cas il peut-être indirectement introduit dans les systèmes aquatiques via les feuilles tombées ou par lixiviation: des concentrations réalistes dans les feuilles, ($30\text{-}40 \mu\text{g g}^{-1}$ de poids frais) l'imidaclopride, peuvent inhiber la décomposition de la litière de feuilles en raison des effets néfastes sur les invertébrés décomposeurs [46], mais elles n'ont pas d'effet sur les microbes de décomposeurs.

Les écosystèmes terrestres ont aussi été signalés comme négativement affectés par l'imidaclopride. Une étude conduite sur trois ans sur une pelouse expérimentale [47] a révélé que ces trois années consécutives d'application d'imidaclopride sur la même parcelle de terrain a réduit de 54 à 62% les hexapodes, collemboles, thysanoptères et coléoptères. Cependant, les applications de l'imidaclopride à un potager expérimental n'a eu qu'un effet temporaire sur les communautés d'arthropodes d'une récolte d'aubergines [48]

peut-être parce que l'immigration d'insectes en provenance d'aires proches a compensé la perte causée par l'insecticide. Quand l'imidaclopride est appliqué comme insecticide systémique sur le sol autour des arbres il peut être responsable d'effets sublétaux sur les vers de terre si les concentrations dans la litière atteignent ou excèdent 3 mg kg^{-1} [49, 50]. Une récente étude indique une haute toxicité de l'imidaclopride pour un arthropode terrestre non cible *Porcellio scaber*, au même niveau qu'avec l'organophosphoré diazinon. Cependant, parce que le blocage de AChRs par le diazinon est temporaire (il dure seulement quelques heures) son effet toxique ne durait qu'aussi longtemps qu'il était présent dans le sol à des concentrations suffisantes, alors que les effets de l'imidaclopride peuvent durer beaucoup plus longtemps si les nAChRs sont bloqués en permanence.

Autres substances chimiques

Les effets dépendants de la durée d'exposition ont aussi été observés avec des métaux toxiques. Sánchez-Bayo [29] a analysé les données fournies par d'autres auteurs et a conclu que la toxicité du cuivre, du zinc, du sélénium et du cadmium (comme le CdCl_2) pour *Daphnia magna* et celle du zinc pour le guppy (*Poecilia reticulata*) suit le même modèle décrit par l'équation (26). La médiane des durées pour obtenir 50% de mortalité (t50) décroît avec l'augmentation des concentrations en métaux, comme cela a été vu avec les carcinogènes et les néonicotinoïdes, suggérant que pour tous les métaux le temps constant de dissociation de ces substances métalliques des récepteurs critiques T_R est élevé. Cependant, avec l'exception du sélénium, et en complet contraste avec l'action des carcinogènes et des nicotinoïdes la dose totale de métal prise, léthale pour les organismes aquatiques, décroît aussi avec une augmentation des concentrations de métaux comme cela est été montré ici pour *Daphnia magna* (Tableau 3). La toxicité du sélénium suit la règle de Haber, avec $n = 1$, et, on peut l'affirmer sans risque, il se lie de manière irréversible aux récepteurs critiques, mais la valeur n caractérisant la toxicité du cuivre, du zinc, du cadmium était de 0,3, 0,47, 0,60, respectivement. Ainsi, alors qu'avec les carcinogènes et les néonicotinoïdes, de basses concentrations sont effectivement plus toxiques que des concentrations élevées, il s'avère que les basses concentrations de métal sont moins toxiques que les concentrations plus élevées. Ceci pourrait refléter des processus d'élimination lesquels diminueraient la toxicité des métaux au cours du temps d'exposition.

Chemical	Concentration (C) in µg L ⁻¹	Time to 50% mortality (T50) in days	C x T50 product in µg L ⁻¹ .days	n
Copper*	28	32.6	912	0.30
	32	6.5	208	
	48	3.2	154	
	56	2.0	112	
	64	1.3	80	
CdCl ₂ **	3.2	292	935	0.60
	5.6	58	325	
	10	38	375	
	18	11	203	
	32	6	181	
	56	2	105	
Selenium*	158	3.3	514	1.03
	800	0.7	567	
	1200	0.5	600	
	1600	0.4	600	
	2000	0.3	500	
Zinc*	59	163	9617	0.47
	125	32	4000	
	250	2	490	
	500	1.3	667	

*Données d'origine d'après Hoang et al. [64]

** Données d'origine d'après Kooijman [65]

Tableau 3: Mortalité de *Daphnia magna* induite par un métal élément ou composé (D'après Sánchez -Bayo [29]). Les résultats suivent l'équation C T50n = constante.

La toxicité du métal est particulièrement insidieuse, car elle affecte non seulement les organismes aquatiques mais aussi beaucoup d'organismes terrestres au travers de la chaîne alimentaire. Alors qu'il est nécessaire d'obtenir plus d'informations pour prouver que d'autres éléments métalliques ou métalloïdes (e.g. arsenic) produisent des effets toxiques dépendants de la durée, les preuves jusqu'ici obtenues par des expériences de toxicité réalisées avec des poissons (e.g. [52 – 54]) illustrent un modèle de toxicité similaire à ceux observés avec les insecticides néonicotinoïdes. Ceci est probablement le résultat de l'accumulation de métaux dans le corps, laquelle accumulation s'accroît avec le temps jusqu'à ce que les organismes atteignent une dose suffisante pour causer un effet toxique (voir la revue dans [55]). Au moins nous savons que c'est le cas avec la contamination au mercure chez l'humain laquelle a conduit aux conséquences connues sous le nom de Maladie de Minamata [56].

Il est évident que tout produit chimique qui se lie de façon permanente à un récepteur dans le corps peut produire un effet toxique et peut avoir des effets dépendants du temps chaque fois que les récepteurs liés restent dans le corps de l'organisme. Les exemples présentés ici pour les substances cancérigènes qui se lient à l'ADN, les insecticides néonicotinoïdes qui désactivent nAChRs et les éléments ou composés métalliques, tel le CdCl₂, qui s'accumulent dans les tissus de l'organisme, suggèrent que c'est probablement le cas. Ceci suggère que beaucoup d'autres substances peuvent se comporter de la même manière, même si nous pouvons être inconscients de leur ergocinétique.

Jusqu'ici nous avons discuté seulement des toxiques qui affectent les animaux, mais dans son principe la toxicité dépendante de la durée pourrait aussi s'appliquer aux modèles d'action des herbicides dans les plantes et les algues. Par exemple, si les composés herbicides rebelles (e.g. les inhibiteurs de PSII) peuvent bloquer définitivement la voie de photosynthèse dans les chloroplastes, il est probable qu'ils peuvent aussi avoir un effet dépendant du temps chez les algues et les plantes supérieures. Ceci pourrait avoir de sérieuses implications pour l'évaluation du risque des herbicides dans les cultures agricoles et les récifs coralliens, entre autres. La recherche dans ce domaine de l'écotoxicologie fait encore défaut, ainsi, nous ne pouvons seulement que spéculer sur ce sujet.

Implications pour l'évaluation du risque

Bien que le modèle du temps-pour-un-événement (Time-To-Event, TTE) a été considéré dans les années récentes comme devant être inclus dans l'évaluation des risques des contaminants environnementaux dans des domaines aussi diverses que l'agriculture [57], la santé au travail [58], l'ingénierie [59] et en écologie [60], dans le domaine des substances chimiques

considérées, les implications du modèle de la toxicité dépendante de la durée n'ont pas encore été réalisées.

D'abord, nous devons savoir quelles sortes de substances toxiques se comportent selon le modèle « durée - toxicité dépendante », ceci revient à se demander « *quelles substances chimiques se lient de manière irréversible aux récepteurs spécifiques* ». Jusqu'à présent, les preuves mises en évidence ici indiquent que les néonicotinoïdes, certains carcinogènes et métaux ou métalloïdes appartiennent à cette tendance mais d'autres peuvent également suivre ce modèle.

Secondement, si le toxique a des effets dépendants de la durée, les procédures standards d'évaluation du risque ne seraient pas valides dans des situations où il y a des expositions à des concentrations sublétales de toxiques pour de longues périodes. Traditionnellement ce type d'exposition a été considéré comme relevant de la toxicité chronique, et sa relation avec les critères d'évaluation des standards de toxicité aiguë (e.g. CL50) a été étudié chez de nombreuses espèces aquatiques [61] depuis, Kenaga a introduit un ratio pour le décrire [62]. Cependant, cette approche traditionnelle ignore les « *mécanismes temporels* » sous-jacents de la toxicité qui ont été décrits dans la présente revue.

Il n'y a aucun doute, qu'une fois que les écotoxicologues auront réalisé le potentiel capital et les avantages de l'approche Temps-pour-un-Évènement (TTE), ce modèle deviendra un outil standard « *d'analyse de la toxicité par exposition par impulsion, et les effets toxiques latents émergents après exposition cesseront, car ces deux phénomènes sont liés à la durée d'exposition* » [63]. Nous avons déjà signalé ici le travail expérimental de Beketov et Liess [30] à cet égard, nous espérons seulement que beaucoup de chercheurs pourront suivre la même voie.

Références

1. Truhaut R (1977) Ecotoxicology: objectives, principles and perspectives. *Ecotoxicol Environ Saf* 1:151–173.
2. Landis WG, Chapman PM (2011) Well past time to stop using NOELs and LOELs. *Integr Environ Assess Manage* 7: vi-viii.
3. Crane M, Newman MC (2000) What level of effect is a no observed effect? *Environ Toxicol Chem* 19: 516-519.
4. Kooijman SALM, Bedaux JJM, Slob W (1996) No-effect concentrations as a basis for ecological risk assessment. *Risk Anal* 16: 445-447.
5. Druckrey H, Küpfmüller K (1949) Dosis und Wirkung - Beiträge zur theoretischen Pharmakologie. Editio Cantor GmbH, Freiburg im Breisgau, Germany.
6. Matsumura F (1985) Toxicology of pesticides. Plenum Press, New York.
7. Kooijman SALM, Bedaux JJM (1996) The analysis of aquatic toxicity data. VU University Press, Amsterdam, The Netherlands.
8. Mackay D, Puig H, McCarty LS (1992) An equation describing the time course and variability in uptake and toxicity of narcotic chemicals to fish. *Environ Toxicol Chem* 11: 941-951.
9. Tennekes HA (2010) The significance of the Druckrey-Küpfmüller equation for risk assessment - The toxicity of neonicotinoid insecticides to arthropods is reinforced by exposure time. *Toxicology* 276: 1-4.
10. Newman MC, McCloskey JT (1996) Time-to-event analyses of ecotoxicity data. *Ecotoxicology* 5: 187-196.
11. Crane M, Newman MC, Chapman PF, Fenlon J (2002) Risk assessment with Time to Events models. CRC Press LLC, Boca Raton, FL.
12. Haber F (1924) Zur Geschichte des Gaskrieges. In: Fünf Vorträge aus den Jahren 1920–1923. Julius Springer, Berlin, pp. 76–92.
13. Witschi H (1999) Some notes on the history of Haber's law. *Toxicol Sci* 50: 164–168.
14. Druckrey H (1943) Quantitative Grundlagen der Krebszeugung. *Klin Wochenschr* 22: 532.
15. Brookes P, Lawley PD (1964) Evidence for the binding of polynuclear aromatic hydrocarbons to the nucleic acids of mouse skin: Relation between carcinogenic power of hydrocarbons and their binding to deoxyribonucleic acid. *Nature* 202: 781-784.

16. Wunderlich V (2007) "Substances capable of self-reproduction" as cellular targets of chemical carcinogens. *Ntm* 15: 271-283.
17. Warwick GP, Roberts JJ (1967) Persistent binding of Butter Yellow metabolites to rat liver DNA. *Nature* 213: 1206-1207.
18. Stoughton SJ, Liber K, Culp J, Cessna A (2008) Acute and chronic toxicity of imidacloprid to the aquatic invertebrates *Chironomus tentans* and *Hyalella azteca* under constant- and pulse-exposure conditions. *Arch Environ Contam Toxicol* 54: 662-673.
19. Abbink J (1991) The biochemistry of imidacloprid. *Pflanzenschutz-Nachrichten Bayer, Germany, F.R., Serial ID – ISSN: 0340-1723*
20. Thany SH (2010). Neonicotinoid insecticides. Historical evolution and resistance mechanisms. In: Thany SH (Ed.) *Insect nicotinic acetylcholine receptors. Advances in Experimental Medicine and Biology* 683: 75-84.
21. Druckrey H, Dischler W. (1963) Dosis-Wirkungsbeziehungen bei der Krebszeugung durch 4-dimethylaminostilben bei Ratten. *Z Krebsforsch* 65: 272
22. Druckrey H, Schildbach A, Schmaehl D, Preussmann R, Ivankovic S (1963) Quantitative analysis of the carcinogenic effect of diethylnitrosamine. *Arzneimittelforschung* 13: 841-851.
23. Druckrey H, Schagen B, Ivankovic S (1970) Induction of neurogenic malignancies by one single dose of ethyl-nitrosourea (ENU) given to newborn and juvenile BD IX-strain rats. *Z Krebsforsch* 74: 141-161.
24. Tennekes H, Gretton VA, Stedeford T (2010) Hazard and risk assessment of chemical carcinogenicity within a regulatory context. In: *Cancer risk assessment: Chemical carcinogenesis, hazard evaluation, and risk quantification* (Eds. Hsu CH, Stedeford T), pp. 37-65. John Wiley and Sons, Hoboken, NJ
25. Choe KS, Radparvar F, Matushansky I, Rektman N, Han X, Skoultschi AI (2003) Reversal of tumorigenicity and the block to differentiation in erythroleukemia cells by GATA-1. *Cancer Res* 63: 6363-6369.
26. Graf T, Ade N, Beug H (1978) Temperature-sensitive mutant of avian erythroblastosis virus suggests a block of differentiation as mechanism of leukaemogenesis. *Nature* 275: 496-501.
27. Yuspa SH, Kilkenny AE, Stanley J, Licht U (1985) Keratinocytes blocked in phorbol ester-responsive early stage of terminal differentiation by sarcoma viruses. *Nature* 314: 459-462.
28. Carlborg FW (1981) Dose-response functions in carcinogenesis and the Weibull model. *Food Cosmet Toxicol* 19: 255-263.
29. Sánchez-Bayo F (2009) From simple toxicological models to prediction of toxic effects in time. *Ecotoxicology* 18: 343-354.
30. Beketov MA, Liess M (2008) Acute and delayed effects of the neonicotinoid insecticide thiacloprid on seven freshwater arthropods. *Environ Toxicol Chem* 27: 461-470.
31. Suchail S, Guez D, Belzunces L (2001) Discrepancy between acute and chronic toxicity induced by imidacloprid and its metabolites in *Apis mellifera*. *Environ Toxicol Chem* 20: 2482-2486.
32. Guez D, Suchail S, Gauthier M, Maleszka R, Belzunces LP (2001) Contrasting effects of imidacloprid on habituation in 7- and 8-day-old honeybees (*Apis mellifera*). *Neurobiol Learn Mem* 76: 183-191.
33. Lambin M, Armengaud C, Raymond S, Gauthier M (2001) Imidacloprid-induced facilitation of the proboscis extension reflex habituation in the honeybee. *Arch Insect Biochem Physiol* 48: 129-134.
34. Decourtye A, Devillers J, Cluzeau S, Charreton M, Pham-Delègue M-H (2004) Effects of imidacloprid and deltamethrin on associative learning in honeybees under semi-field and laboratory conditions. *Ecotoxicol Environ Saf* 57: 410-419.
35. Colin ME, Bonmatin JM, Moineau I, Gaimon C, Brun S, et al. (2004) A method to quantify and analyze the foraging activity of honey bees: relevance to sublethal effects induced by systemic insecticides. *Arch Environ Contam Toxicol* 47: 387-395.
36. Chauzat MP, Faucon J-P, Martel A-C, Lachaize J, Cougoule N, et al. (2006) A survey of pesticide residues in pollen loads collected by honey bees in France. *J Econ Entomol* 99:253-262.
37. Yang EC, Chuang YC, Chen YL, Chang LH (2008) Abnormal foraging behavior induced by sublethal dosage of imidacloprid in the honey bee (Hymenoptera: Apidae). *J Econ Entomol* 101: 1743-1748.
38. Decourtye A, Devillers J (2010) Ecotoxicity of neonicotinoid insecticides to bees. In: Thany SH (Ed.) *Insect nicotinic acetylcholine receptors. Advances in Experimental Medicine and Biology* 683: 85-95.
39. Menzel R, Geiger K, Joerges J, Muller ULI, Chittka L (1998) Bees travel novel homeward routes by integrating separately acquired vector memories. *Anim Behav* 55: 139-152.
40. Capaldi EA, Dyer FC (1999) The role of orientation flights on homing performance in honeybees. *J Exp Biol* 202: 1655-1666.
41. Gauthier M (2010) State of the art insect nicotinic acetylcholine receptor function in learning and memory. In: Thany SH (Ed.) *Insect nicotinic acetylcholine receptors. Advances in Experimental Medicine and Biology* 683:97-115.
42. Sánchez-Bayo F, Goka K (2006) Ecological effects of the insecticide imidacloprid and a pollutant from antidandruff shampoo in experimental rice fields. *Environ Toxicol Chem* 25: 1677-1687.
43. Hayasaka D, Korenaga T, Sánchez-Bayo F, Goka K (2011) Differences in ecological impacts of systemic insecticides with different physicochemical properties on biocenosis of experimental paddy fields. *Ecotoxicology DOI* 10.1007/s10646-011-0778-y.
44. Alexander AC, Heard KS, Culp JM (2008) Emergent body size of mayfly survivors *Freshwat Biol* 53: 171-180.
45. Beketov MA, Schäfer RB, Marwitz A, Paschke A, Liess M (2008) Longterm stream invertebrate community alterations induced by the insecticide thiacloprid: Effect concentrations and recovery dynamics. *Sci Total Environ* 405: 96-108.
46. Kreutzweiser DP, Thompson DG, Scarr TA. (2009) Imidacloprid in leaves from systemically treated trees may inhibit litter breakdown by non-target invertebrates. *Ecotoxicol Environ Saf* 72: 1053-1057.
47. Peck DC (2009) Comparative impacts of white grub (Coleoptera: Scarabaeidae) control products on the abundance of non-target soil-active arthropods in turfgrass. *Pedobiologia* 52: 287-299.
48. Sánchez-Bayo F, Yamashita H, Osaka R, Yoneda M, Goka K (2007) Ecological effects of imidacloprid on arthropod communities in and around a vegetable crop. *J Environ Sci Health B* 42: 279-286.
49. Kreutzweiser DP, Good KP, Chartrand DT, Scarr TA, Holmes SB, et al. (2008) Effects on litter-dwelling earthworms and microbial decomposition of soil-applied imidacloprid for control of wood-boring insects. *Pest Manage Sci* 64:112-118.
50. Kreutzweiser DP, Good KP, Chartrand DT, Scarr TA, Thompson DG (2008) Are leaves that fall from imidacloprid-treated maple trees to control Asian longhorned beetles toxic to non-target decomposer organisms? *J Environ Qual* 37: 639-646.
51. Drobne D, Blazic M, Van Gestel CAM, Leser V, Zidar P, et al. (2008) Toxicity of imidacloprid to the terrestrial isopod *Porcellio scaber* (Isopoda, Crustacea). *Chemosphere* 71: 1326 – 1334.
52. Connolly JP (1985) Predicting single-species toxicity in natural water systems. *Environ Toxicol Chem* 4: 573-582.
53. Pascoe D, Shazili NAM (1986) Episodic pollution - A comparison of brief and continuous exposure of rainbow trout to cadmium. *Ecotoxicol Environ Saf* 12: 189-198.
54. Newman MC, Diamond SA, Mulvey M, Dixon P (1989) Allozyme genotype and time to death of mosquitofish, *Gambusia affinis* (Baird and Girard) during acute toxicant exposure: a comparison of arsenate and inorganic mercury. *Aquat Toxicol* 15: 141-156.
55. Mann RM, Vijver MG, Peijnenburg WJGM (2011) Metals and metalloids in terrestrial systems: Bioaccumulation, biomagnification and subsequent adverse effects. In: Sánchez-Bayo, F, van den Brink, PJ, Mann, R (eds.) *Ecological impacts of toxic chemicals*. Bentham Science Publishers pp 43-62.
56. Halstead BW (1959) Minamata disease - a neurological disorder resulting from the eating of Japanese shellfish and other marine organisms. *Amer Malacol Union Ann Rept* 1959: 32
57. Fenlon JS (2002) Time to event analysis in the agricultural sciences. In: Crane, M, Newman, MC, Chapman, PF, Fenlon, J (eds.) *Risk assessment with Time to Events models*. CRC Press LLC, Boca Raton, FL, pp. 103-119.

58. Karman CC (2002) Using time to event modeling to assess the ecological risk of produced water discharges. In: Crane, M, Newman, MC, Chapman, PF, Fenlon, J (eds.) *Risk assessment with Time to Events models*. CRC Press LLC, Boca Raton, FL, pp. 89-102.

59. Kimber A (2002) Time to event analysis in engineering. In: Crane, M, Newman, MC, Chapman, PF, Fenlon, J (eds.) *Risk assessment with Time to Events models*. CRC Press LLC, Boca Raton, FL, pp. 141-151.

60. Manly BFJ (2002) Time to event analysis in ecology. In: Crane, M, Newman, MC, Chapman, PF, Fenlon, J (eds.) *Risk assessment with Time to Events models*. CRC Press LLC, Boca Raton, FL, pp. 121-140.

61. Raimondo S, Montague BJ, Barron MG (2007) Determinants of variability in acute to chronic toxicity ratios for aquatic invertebrates and fish. *Environ Toxicol Chem* 26: 2019-2023.

62. Kenaga EE (1982) Predictability of chronic toxicity from acute toxicity of chemicals in fish and aquatic invertebrates. *Environ Toxicol Chem* 1: 347-358.

63. Crane M, Chapman PF, Newman MC (2002) Conclusions. In: Crane, M, Newman, MC, Chapman, PF, Fenlon, J (eds.) *Risk assessment with Time to Events models*. CRC Press LLC, Boca Raton, FL, pp. 167-168.

64. Hoang TC, Tomasso JR, Klaine SJ (2007) An integrated model describing the toxic responses of *Daphnia magna* to pulsed exposures of three metals. *Environ Toxicol Chem* 26: 132-138.

65. Kooijman SALM (1981) Parametric analyses of mortality rates in bioassays. *Water Res* 15: 107-119.

This article was originally published in a special issue, **Toxicology of Pesticides** handled by Editor(s). Dr. Francisco Sanchez Bayo, Australia; Dr. Richard ORTEGA, France

Submit your next manuscript and get advantages of OMICS Group submissions

Unique features:

- User friendly/feasible website-translation of your paper to 50 world's leading languages
- Audio Version of published paper
- Digital articles to share and explore

Special features:

- 200 Open Access Journals
- 15,000 editorial team
- 21 days rapid review process
- Quality and quick editorial, review and publication processing
- Indexing at PubMed (partial), Scopus, DOAJ, EBSCO, Index Copernicus and Google Scholar etc
- Sharing Option: Social Networking Enabled
- Authors, Reviewers and Editors rewarded with online Scientific Credits
- Better discount for your subsequent articles

Submit your manuscript at www.omicsonline.org/submission/

