

## Faculté de Pharmacie

Année 2019

Thèse N°

### Thèse pour le diplôme d'État de docteur en Pharmacie

Présentée et soutenue publiquement

Le 8 novembre 2019

Par Marine FABRE

Né(e) le 17 avril 1995 à Aurillac

## NEONICOTINOÏDES ET PRODUITS APICOLES

Thèse dirigée par le Pr. Franck SAINT-MARCOUX

Examineurs :

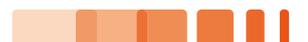
M. le Pr. Franck SAINT-MARCOUX, Professeur des Universités      Président du jury

M. le Dr. Bertrand COURTIOUX, Maître de conférence, Université de Limoges      Juge

M. le Pr. Philippe CARDOT, Professeur des Universités      Juge

M. le Dr. Antoine BREVIERE, Docteur en Pharmacie      Juge

M. Olivier DU PELOUX      Membre invité





**Faculté de Pharmacie**

Année 2020

Thèse N°

**Thèse pour le diplôme d'État de docteur en Pharmacie**

Présentée et soutenue publiquement

le 8 novembre 2019

Par Marine FABRE

Né(e) le 17 avril 1995 à Aurillac

**NEONICOTINOÏDES ET PRODUITS APICOLES**

Thèse dirigée par Franck SAINT-MARCOUX

Examineurs :

M. le Pr Franck SAINT-MARCOUX, Professeur des Universités	Président du jury
M. le Dr Bertrand COURTIoux, Maître de conférence, Université de Limoges	Juge
M. le Pr Philippe CARDOT, Professeur des Universités	Juge
M. le Dr Antoine BREVIERE, Docteur en Pharmacie	Juge
M. Olivier DU PELOUX	Membre invité



## Liste des enseignants

---

Le 1<sup>er</sup> novembre 2018

### **PROFESSEURS :**

<b>BATTU</b> Serge	CHIMIE ANALYTIQUE
<b>CARDOT</b> Philippe	CHIMIE ANALYTIQUE ET BROMATOLOGIE
<b>DESMOULIERE</b> Alexis	PHYSIOLOGIE
<b>DUROUX</b> Jean-Luc	BIOPHYSIQUE, BIOMATHEMATIQUES ET INFORMATIQUE
<b>FAGNERE</b> Catherine	CHIMIE THERAPEUTIQUE - CHIMIE ORGANIQUE
<b>LIAGRE</b> Bertrand	BIOCHIMIE ET BIOLOGIE MOLECULAIRE
<b>MAMBU</b> Lengo	PHARMACOGNOSIE
<b>ROUSSEAU</b> Annick	BIOSTATISTIQUE
<b>TROUILLAS</b> Patrick	CHIMIE PHYSIQUE - PHYSIQUE
<b>VIANA</b> Marylène	PHARMACOTECHNIE

### **PROFESSEURS DES UNIVERSITES - PRATICIENS HOSPITALIERS DES DISCIPLINES PHARMACEUTIQUES :**

<b>PICARD</b> Nicolas	PHARMACOLOGIE
<b>ROGEZ</b> Sylvie	BACTERIOLOGIE ET VIROLOGIE
<b>SAINT-MARCOUX</b> Franck	TOXICOLOGIE

### **ASSISTANT HOSPITALIER UNIVERSITAIRE DES DISCIPLINES PHARMACEUTIQUES :**

<b>CHAUZEIX</b> Jasmine	HÉMATOLOGIE (du 01.11.2018 au 31.10.2019)
<b>JOST</b> Jérémy	PHARMACIE CLINIQUE (du 01.11.2018 au 31.10.2019)

### **MAITRES DE CONFERENCES :**

<b>BASLY</b> Jean-Philippe	CHIMIE ANALYTIQUE ET BROMATOLOGIE
<b>BEAUBRUN-GIRY</b> Karine	PHARMACOTECHNIE

<b>BÉGAUD</b> Gaëlle	CHIMIE ANALYTIQUE ET CONTRÔLE DU MÉDICAMENT
<b>BILLET</b> Fabrice	PHYSIOLOGIE
<b>CALLISTE</b> Claude	BIOPHYSIQUE, BIOMATHEMATIQUES ET INFORMATIQUE
<b>CLÉDAT</b> Dominique	CHIMIE ANALYTIQUE ET BROMATOLOGIE
<b>COMBY</b> Francis	CHIMIE ORGANIQUE ET THERAPEUTIQUE
<b>COURTIOUX</b> Bertrand	PHARMACOLOGIE, PARASITOLOGIE
<b>DELEBASSÉE</b> Sylvie	MICROBIOLOGIE-PARASITOLOGIE-IMMUNOLOGIE
<b>DEMIOT</b> Claire-Elise	PHARMACOLOGIE
<b>FABRE</b> Gabin	SCIENCES PHYSICO-CHIMIQUES ET INGÉNIERIE APPLIQUÉE
<b>FROISSARD</b> Didier	BOTANIQUE ET CRYPTOLOGIE
<b>JAMBUT</b> Anne-Catherine	CHIMIE ORGANIQUE ET THERAPEUTIQUE
<b>LABROUSSE</b> Pascal	BOTANIQUE ET CRYPTOLOGIE
<b>LAVERDET-POUCH</b> Betty	PHARMACIE GALÉNIQUE
<b>LEGER</b> David	BIOCHIMIE ET BIOLOGIE MOLÉCULAIRE
<b>MARION-THORE</b> Sandrine	CHIMIE ORGANIQUE ET THÉRAPEUTIQUE (jusqu'au 31.01.2019)
<b>MARRE-FOURNIER</b> Françoise	BIOCHIMIE ET BIOLOGIE MOLÉCULAIRE
<b>MERCIER</b> Aurélien	PARASITOLOGIE
<b>MILLOT</b> Marion	PHARMACOGNOSIE
<b>MOREAU</b> Jeanne	MICROBIOLOGIE-PARASITOLOGIE-IMMUNOLOGIE
<b>PASCAUD</b> Patricia	PHARMACIE GALÉNIQUE – BIOMATÉRIAUX CERAMIQUES
<b>POUGET</b> Christelle	CHIMIE ORGANIQUE ET THÉRAPEUTIQUE
<b>VIGNOLES</b> Philippe	BIOPHYSIQUE, BIOMATHÉMATIQUES ET INFORMATIQUE

**ATTACHE TEMPORAIRE D'ENSEIGNEMENT ET DE RECHERCHE :**

**BOUDOT** Clotilde

MICROBIOLOGIE  
(du 01.09.2018 au 31.08.2019)

**RIOUX** Benjamin

CHIMIE ORGANIQUE ET THÉRAPEUTIQUE  
(du 01.09.2018 au 31.08.2019)

**PROFESSEUR CERTIFIÉ**

**VERCELLIN** Karen

ANGLAIS

**PROFESSEURS EMERITES :**

**BUXERAUD** Jacques

(jusqu'au 30/09/2019)

**DREYFUSS** Gilles

(jusqu'au 30/09/2019)

**MOESCH** Christian

(jusqu'au 01/01/2019)

## Remerciements

---

Je tiens à adresser mes sincères remerciements à mon maître de thèse, le Professeur SAINT-MARCOUX, président du jury, qui m'a encadré tout au long de ma thèse. Je vous suis reconnaissante d'avoir pris du temps pour ma thèse. Je vous remercie pour votre disponibilité, vos conseils vos encouragements et la qualité de vos enseignements.

Je remercie le Professeur CARDOT Philippe d'avoir bien accepté de faire partie de mon jury et sans qui cette première étude n'aurait pas pu se faire.

Je remercie le Docteur COURTIOUX Bertrand pour l'honneur que vous me faites de prendre part à ce jury et pour le temps que vous avez consacré à ce travail. Merci pour la qualité de vos enseignements et votre écoute à l'égard des étudiants.

Je remercie le Docteur BREVIERE Antoine pour s'être rendu disponible, de m'avoir guidée et aidée dans la préparation de ma thèse.

Je remercie Mr Du PELOUX et tous les membres du Rucher École de Rocamadour pour la collaboration et sans qui cette étude n'aurait pas pu être menée.

A mes parents sans qui je n'aurai jamais pu faire ces études, merci à vous. Merci de m'avoir supportée dans les moments les plus difficiles et de m'avoir encouragée. Merci pour cette éducation, je n'en serai certainement pas là sans vous.

Merci à mon Charles, mon Choucha d'être à mes côtés, de me supporter et m'encourager sans cesse. Merci pour ton soutien et ton amour.

Merci à mon frère dont je suis fière, mes grands-parents que j'aime et à toute ma famille.

Merci à mes beaux-parents et Christiane pour tout ce que vous faites pour nous.

A ma Grande Mamie qui serait fière et René, je penserai toujours à vous.

## Droits d'auteurs

---

Cette création est mise à disposition selon le Contrat :

« **Attribution-Pas d'Utilisation Commerciale-Pas de modification 3.0 France** »

disponible en ligne : <http://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/3.0/fr/>



## Table des matières

---

<b>INTRODUCTION .....</b>	<b>14</b>
<b>PARTIE I : CLASSIFICATION ET DESCRIPTIF MORPHOLOGIQUE DE L'ABEILLE .....</b>	<b>15</b>
<b>I. LA MORPHOLOGIE GENERALE DE L'ABEILLE .....</b>	<b>15</b>
1. La tête .....	16
2. Le thorax .....	21
3. L'abdomen .....	24
<b>II. L'ANATOMIE INTERNE DE L'ABEILLE .....</b>	<b>25</b>
1. Le système respiratoire .....	25
2. L'appareil circulatoire .....	26
3. Le système nerveux .....	27
4. Le système digestif .....	28
5. L'appareil vulnérant ou aiguillon .....	30
6. L'appareil reproducteur .....	31
<b>III. LE CYCLE DE DEVELOPPEMENT DES ABEILLES .....</b>	<b>33</b>
1. De l'œuf à l'imago .....	33
2. Le développement d'une ouvrière .....	37
3. Le développement de la reine .....	39
4. Le développement des faux- bourdons .....	39
5. La durée de vie des abeilles .....	39
6. La nutrition des abeilles adultes .....	40
<b>PARTIE II : LE MIEL .....</b>	<b>41</b>
<b>I. LA RECOLTE DU MIEL .....</b>	<b>41</b>
1. Les abeilles et la pollinisation .....	41
2. Le travail de l'apiculteur .....	42
<b>II. LES CARACTÉRISTIQUES ORGANOLEPTIQUES DU MIEL .....</b>	<b>45</b>
1. La couleur .....	46
2. La consistance .....	46
3. Les arômes et saveurs .....	48
<b>III. LA COMPOSITION CHIMIQUE DU MIEL .....</b>	<b>49</b>
1. Les sucres .....	51
2. L'eau .....	51
3. Les minéraux .....	51
4. Les enzymes .....	51
5. Les protéines .....	51
6. Les vitamines .....	52
7. Les acides organiques .....	52
8. Les pigments .....	52
9. Différences entre miel de nectar et miel de miellat .....	52
<b>IV. LES PROPRIÉTÉS PHYSIQUES DU MIEL .....</b>	<b>53</b>
1. La densité .....	53
2. La viscosité .....	53
3. La solubilité .....	53
4. Le pH .....	53

5.	La conductibilité .....	53
6.	L'hygroscopie .....	54
7.	L'indice de réfraction .....	54
8.	Le pouvoir rotatoire .....	54
<b>V.</b>	<b>L'UTILISATION DU MIEL EN THERAPEUTIQUE.....</b>	<b>54</b>
1.	Activité antimicrobienne .....	55
2.	Activité anti-inflammatoire .....	57
3.	Activité Cicatrisante .....	57
<b>PARTIE III : LES NEONICOTINOÏDES.....</b>		<b>59</b>
<b>I.</b>	<b>GENERALITES.....</b>	<b>59</b>
<b>II.</b>	<b>LES CARACTERISTIQUES PHYSICO-CHIMIQUES.....</b>	<b>61</b>
1.	L' Imidaclopride .....	62
2.	L'Acétamipride .....	63
3.	Le Nitenpyrame, (1995) .....	64
4.	Le Thiaméthoxame (1998) .....	64
5.	Le Thiaclopride (2000) .....	64
6.	La Clothianidine (2001) .....	65
7.	Le Dinotéfurane, (2002).....	65
<b>III.</b>	<b>LE MECANISME D'ACTION DE NEONICOTINOÏDES .....</b>	<b>66</b>
1.	Les récepteurs à l'acétylcholine de type nicotinique .....	67
2.	Structure des récepteur nicotinique à l' acétylcholine des insectes .....	68
3.	Les récepteurs nicotiniques à l'acétylcholine, cible des néonicotinoïdes .....	69
<b>IV.</b>	<b>LEGISLATION DES NEONICOTINOÏDES.....</b>	<b>72</b>
<b>V.</b>	<b>ÉTUDES SUR LES NEONICOTINOIDES .....</b>	<b>74</b>
1.	Une enquête « mondiale » sur les néonicotinoïdes dans le miel .....	74
2.	Impact des néonicotinoïdes sur les abeilles .....	77
3.	La toxicologie des néonicotinoïdes chez l'homme.....	82
<b>PARTIE IV : DOSAGE DES PESTICIDES NEONICOTINOÏDES DANS LE MIEL PROVENANT DU LOT et le sud de la Corrèze.....</b>		<b>86</b>
1-	Contexte des travaux .....	86
2-	Etude realisee en septembre 2019.....	89
<b>Conclusion .....</b>		<b>93</b>
<b>Références bibliographiques.....</b>		<b>94</b>
<b>Annexes .....</b>		<b>100</b>
<b>Serment De Galien.....</b>		<b>129</b>

## Table des illustrations

---

Figure 1: Schéma de la morphologie d'une abeille .....	16
Figure 2 : Structure d'une ommatidie .....	17
Figure 3 : Comparaison de la perception des couleurs par l'homme et l'abeille (nm : nanomètre) .....	17
Figure 4 : Antenne d'abeille .....	18
Figure 5 : Aspect de la surface antennaire (x 1 500) observé au microscope électronique ..	19
Figure 6 : Appareil buccal de l'abeille .....	20
Figure 7 : Patte médiane de l'abeille .....	22
Figure 8 : Vue externe de la patte postérieure de l'abeille .....	23
Figure 9 : Vue intérieure de la patte postérieure de l'abeille .....	23
Figure 10 : Morphologie de l'aile antérieure et de l'aile postérieure .....	24
Figure 11 : L'anatomie interne de l'abeille .....	25
Figure 12 : Système respiratoire de l'abeille .....	26
Figure 13 : Système circulatoire de l'abeille .....	27
Figure 14 : Coupe longitudinale d'une abeille détaillant le système nerveux.....	28
Figure 15 : Système digestif de l'abeille.....	29
Figure 16 : Appareil vulnérant de l'abeille .....	31
Figure 17 : Appareil génital femelle de la reine .....	32
Figure 18 : Appareil génital du mâle de l'abeille .....	32
Figure 19 : Schéma illustrant la reproduction.....	33
Figure 20 : Le cycle de vie des abeilles .....	34
Figure 21 : Œuf d'abeille .....	34
Figure 22 : Larve d'abeille .....	35
Figure 23 : Nymphe d'abeille.....	35
Figure 24 : Naissance de l'abeille .....	36
Figure 25 : Temps de développement des abeilles en fonction des castes.....	37
Figure 26 : Chronologie de naissance d'une abeille .....	37
Figure 27 : Chronologie de naissance de la reine.....	39
Figure 28 : Chronologie de naissance des faux-bourçons.....	39
Figure 29 : Abeille domestique, genre Apis .....	41
Figure 30 : Hausse de ruche .....	43
Figure 31 : Étape de la désoperculation .....	44
Figure 32 : Extracteur de miel .....	44

Figure 33 : Échantillons de miel d'origines florales différentes .....	45
Figure 34 : Cristallisation des miels : Rapport glucose/ eau .....	47
Figure 35 : Cristallisation des miels : Rapport fructose/ glucose .....	47
Figure 36 : La roue des odeurs et des arômes des miels .....	48
Figure 37 : Année de mise sur le marché des molécules néonicotinoïdes .....	61
Figure 38 : Structures de la nicotine et des insecticides systémiques néonicotinoïdes .....	62
Figure 39 : Tableau récapitulatif des propriétés physiques et du profil toxicologique des néonicotinoïdes .....	66
Figure 40 : Représentation schématique d'une synapse cholinergique.....	67
Figure 41 : Structure d'une sous-unité de nAChRs.....	68
Figure 42 : Assemblage des sous-unités de nAChRs.....	69
Figure 43 : Récepteur nicotinique de l'acétylcholine (nAChR) cible des néonicotinoïdes. ....	69
Figure 44 : Les néonicotinoïdes imidaclopride et clothianidine inhibent la liaison au récepteur nicotinique à l'acétylcholine de la [3H] NMI in vitro en fonction de la concentration (A) et in vivo en fonction de la dose (B).....	70
Figure 45 : Relation entre l'inhibition par les néonicotinoïdes de la liaison in vivo de nAChR [3H] NMI et les signes d'empoisonnement pour différentes doses d'imidaclopride et de clothianidine (A) et pour divers néonicotinoïdes injectées à 0,2 µg / g (B) .....	71
Figure 46 : Distribution mondiale de la contamination du miel par les néonicotinoïdes.....	75
Figure 47 : Distribution des concentrations de néonicotinoïdes totaux dans les 149 échantillons dans lesquels des concentrations quantifiables de néonicotinoïdes ont été mesurées.....	76
Figure 48 : Localisation des 18 ruchers collectés en 2008 et 2009 dans des contextes paysagers différent.....	78
Figure 49 : Données démographiques et résultats cliniques des patients suspectés d'une exposition subaiguë aux néonicotinoïdes .....	83
Figure 50 : Les taux moyens des métabolites de pesticides néonicotinoïdes détectés par LC / TOFMS et les concentrations déterminées par LC / MS / MS dans l'urine de trois cas.....	84
Figure 51 : Concentration urinaire de néonicotinoïdes (µg/ L).....	85
Figure 52 : La répartition des ruchers par zones .....	87
Figure 53 : Évaluation des risques environnementaux .....	88
Figure 54 : Tube pour prélèvements .....	90
Figure 55 : Photo des échantillons de miel .....	90

## Table des tableaux

---

Tableau 1 : Composition du miel.....	50
Tableau 2 : Risque de l'imidaclopride sur les pollinisateurs en fonction de la voie d'exposition .....	73
Tableau 3 : Résultats du dosage des différents échantillons de miel .....	92

## INTRODUCTION

---

L'abeille est un insecte qui a un rôle très important dans la biodiversité environnementale. En effet, elle intervient dans la pollinisation de très nombreuses plantes, ce qui la rend indispensable. Pour comprendre les impacts éventuels liés à l'utilisation de pesticides systémiques comme les néonicotinoïdes et leurs effets sur l'abeille il convient de bien connaître cette espèce.

Mes travaux de thèse ont été menés avec l'idée d'apporter quelques éléments de réponses à différentes questions : Existe-t-il un lien entre la diminution des populations d'abeilles et l'utilisation de pesticides néonicotinoïdes ? En raison de leur persistance dans l'environnement, les abeilles sont-elles exposées de manière chronique ? Les pratiques apicoles ont-elles un impact sur la présence de pesticides dans les produits apicoles ? L'environnement d'un rucher a-t-il un impact sur la qualité des produits apicoles ?

Dans une première partie seront détaillées les caractéristiques biologiques des abeilles, leur cycle de développement ainsi que leurs procédés de synthèse du miel. Une seconde partie portera sur le miel et ses applications thérapeutiques. Une troisième partie sera consacrée aux néonicotinoïdes qui représentent aujourd'hui la famille d'insecticides la plus utilisée dans le monde, et sont utilisés pour leurs effets insecticides contre de nombreux nuisibles. Ces pesticides sont aujourd'hui controversés et incriminés dans le déclin des populations d'abeilles. Des décisions politiques ont été prises et ont abouti à des modifications de législation quant à leur utilisation. Une quatrième partie fait un bilan des connaissances scientifiques sur les liens entre les pertes de colonies d'abeilles et l'utilisation de pesticides néonicotinoïdes. Enfin, ces travaux de thèse se sont inscrits dans le début d'une collaboration entre le Rucher École de Rocamadour et 2 laboratoires du CHU et de la faculté de pharmacie de Limoges. Cette dernière me permet ici de présenter les résultats d'une étude préliminaire rapportant les résultats de l'analyse de miels produits dans le Lot et le Sud de la Corrèze.

# **PARTIE I : CLASSIFICATION ET DESCRIPTIF MORPHOLOGIQUE DE L'ABEILLE**

---

L'abeille fait partie du règne animal, c'est un invertébré. D'après la classification phylogénique, les animaux invertébrés forment une classe de l'embranchement des Arthropodes. L'abeille possède des pattes articulées munies d'un squelette externe chitineux (la cuticule) mais pas de squelette interne (1). Les abeilles appartiennent à la classe des insectes.

L'abeille domestique, *Apis mellifera*, est un insecte de l'ordre des Hyménoptères, leur métamorphose est complète, l'insecte qui sort de l'œuf ne ressemble pas à l'adulte. Les ailes sont membraneuses (fines et translucides) et soudées. La tête est mobile et porte l'appareil buccal de type broyeur – suceur. Le métathorax est soudé au premier segment abdominal (2).

Les abeilles font partie de la famille des Apoïdes qui comportent de nombreux poils sur la cuticule. Par ailleurs, la caractéristique commune à cette famille est la présence d'un jabot dans lequel l'abeille stock le nectar et l'eau et les glandes cirières qui sécrètent la cire pour construire les alvéoles (3).

Elles font partie du genre *Apis* et de l'espèce : *Apis mellifera* (4).

Il existe un certain nombre d'espèces différentes d'abeilles.

## **I. LA MORPHOLOGIE GENERALE DE L'ABEILLE**

L'abeille possède une anatomie bien particulière, cependant il existe des différences notables entre les trois castes d'abeilles (reine/ouvrière/mâle). L'appareil buccal est adapté à l'ingestion de nectar tandis que les pattes sont munies d'une « corbeille » à pollen. Les poils répartis sur tout le corps de l'abeille lui permettent de récolter un maximum de pollen lorsqu'elle butine.

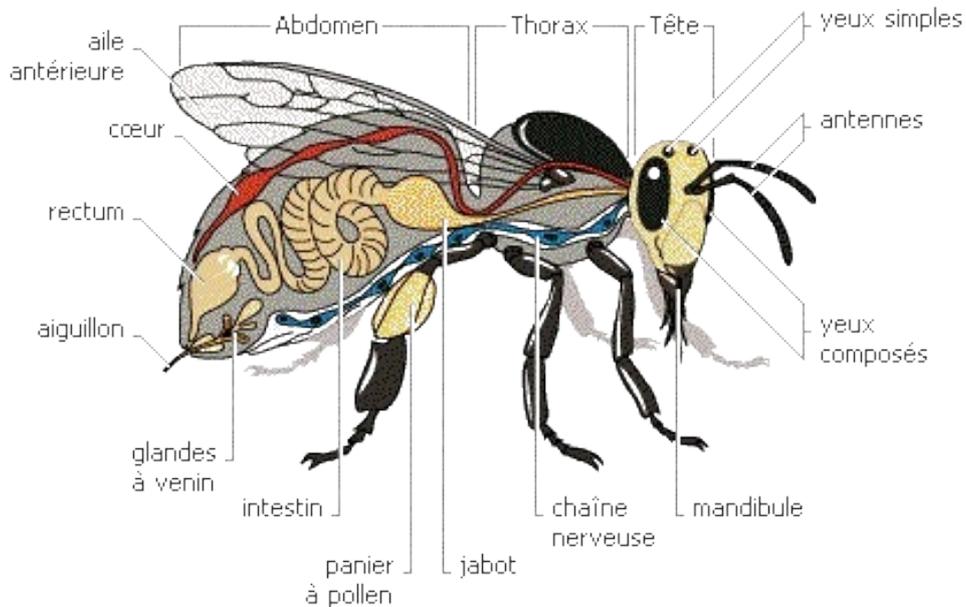


Figure 1: Schéma de la morphologie d'une abeille (5)

Le corps de l'abeille est divisé en trois parties :

- La **tête** qui porte les principaux organes sensoriels,
- Le **thorax** qui porte les deux paires d'ailes et les trois paires de pattes,
- L'**abdomen** qui contient les organes internes et qui est terminé par un dard.

Le corps de l'abeille est muni (de l'intérieur vers l'extérieur) d'un exosquelette comprenant l'hypoderme, la cuticule chitineuse souple et perméable, la cuticuline qui est rigide et imperméable, la mélanine (pigment), une fine couche cireuse et des poils sur tout le corps (5).

### 1. La tête

La tête porte les principaux organes sensoriels : deux gros yeux, trois ocelles, deux antennes et les pièces buccales.

#### Les yeux :

Les deux gros yeux sont composés de plusieurs milliers d'ommatidies. Ce sont des structures unitaires comparables à des yeux simples. La taille de l'ommatidie varie de 5 à 50  $\mu\text{m}$  et est de section hexagonale.

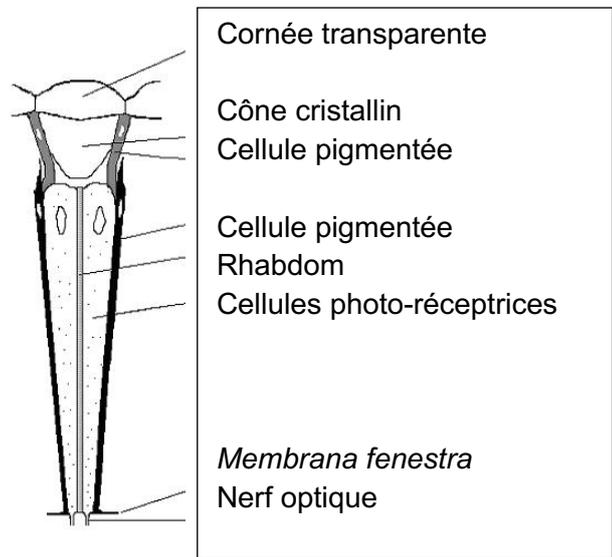


Figure 2 : Structure d'une ommatidie (7)

Les ommatidies étant indépendantes les images le sont aussi. Pour empêcher une lumière angulaire parasite d'entrer et d'exciter le neurone, les rayons lumineux sont absorbés par les ommatidies voisines et par six cellules pigmentaires qui bordent l'extérieur de groupes de trois ommatidies (6).

Les ommatidies permettent la perception des formes, des couleurs et du plan de polarisation de la lumière. Celui-ci permet l'orientation spatiale de l'insecte par rapport à la direction du soleil. Même si le ciel est voilé l'abeille est capable de s'orienter grâce à la polarisation des rayons lumineux.

Le spectre chromatique perçu par l'abeille est différent du nôtre. Elles distinguent seulement 3 couleurs : le bleu, le vert et les UV. Les autres couleurs ne seront pas visibles et apparaîtront en noir (1).

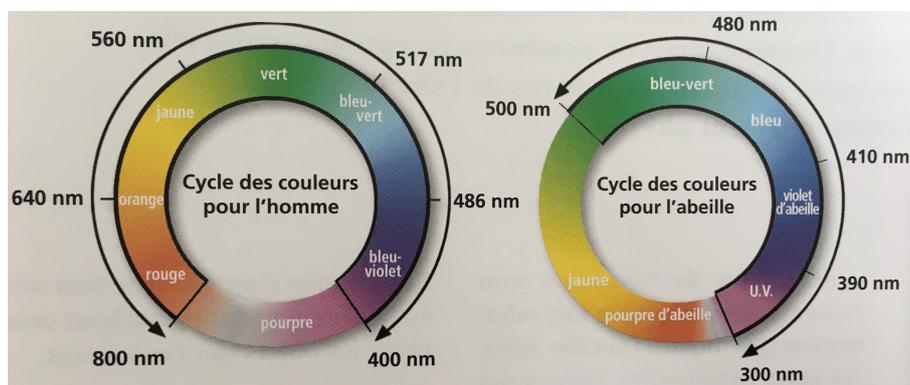


Figure 3 : Comparaison de la perception des couleurs par l'homme et l'abeille (nm : nanomètre) (7)

Le champ visuel de l'abeille est donc très large (proche de 360°). Cela lui permet de se repérer avec précision et de réagir rapidement face à d'éventuels prédateurs (8).

Chaque ommatidie diverge d'un degré d'angle avec sa voisine. Entre chaque ommatidie est implanté un poil qui permet d'enregistrer la vitesse du vent.

L'image finale que perçoit l'abeille résulte de l'intégration des images produites par chaque ommatidie et se présente sous forme de mosaïque.

### **Les ocelles :**

Les ocelles permettent de détecter l'intensité lumineuse mais ne participent pas à la formation des images. Ils sont au nombre de trois (un central et deux latéraux) et sont situés sur la face frontale de la tête. Chaque ocelle est constitué d'une cornée courbée et d'une couche de cellules photo-réceptrices (6).

### **Les antennes :**

Les deux antennes sont constituées d'un flagellum de 10 segments chez la femelle (reine et ouvrière) et de 11 chez le mâle. Il est porté par le scape et le pédicelle qui est courbe (9).

Le scape renferme les organes campaniformes qui sont sensibles aux variations de pression et de température sur la cuticule (10).

Le pédicelle est le 1<sup>er</sup> segment, c'est l'intermédiaire. Il renferme l'organe de Johnston qui capte les plus infimes mouvements du flagelle et sert à assurer l'équilibre de l'insecte (9).

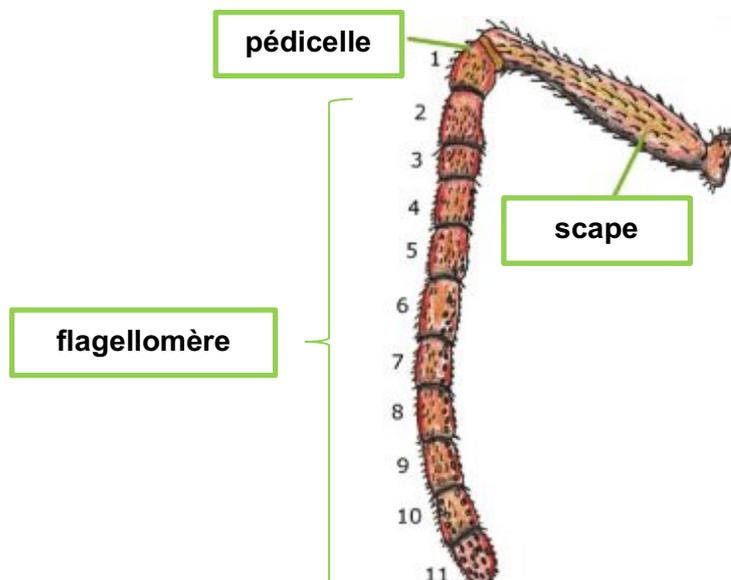


Figure 4 : Antenne d'abeille (9)

À l'extrémité du flagelle se trouve les différents types d'organes sensoriels de l'abeille:

- Les sensilles trichoïdes: longues et pointues qui permettent de capter les vibrations. Elles interviennent aussi dans la détection et la réception des sons.
- Les sensilles basiconiques: elles ont une fonction chémoréceptrice qui permet de déterminer le goût et les odeurs.
- Les plaques poreuses : sur les huit derniers segments pour l'odorat qui constituent un des moyens d'orientation.

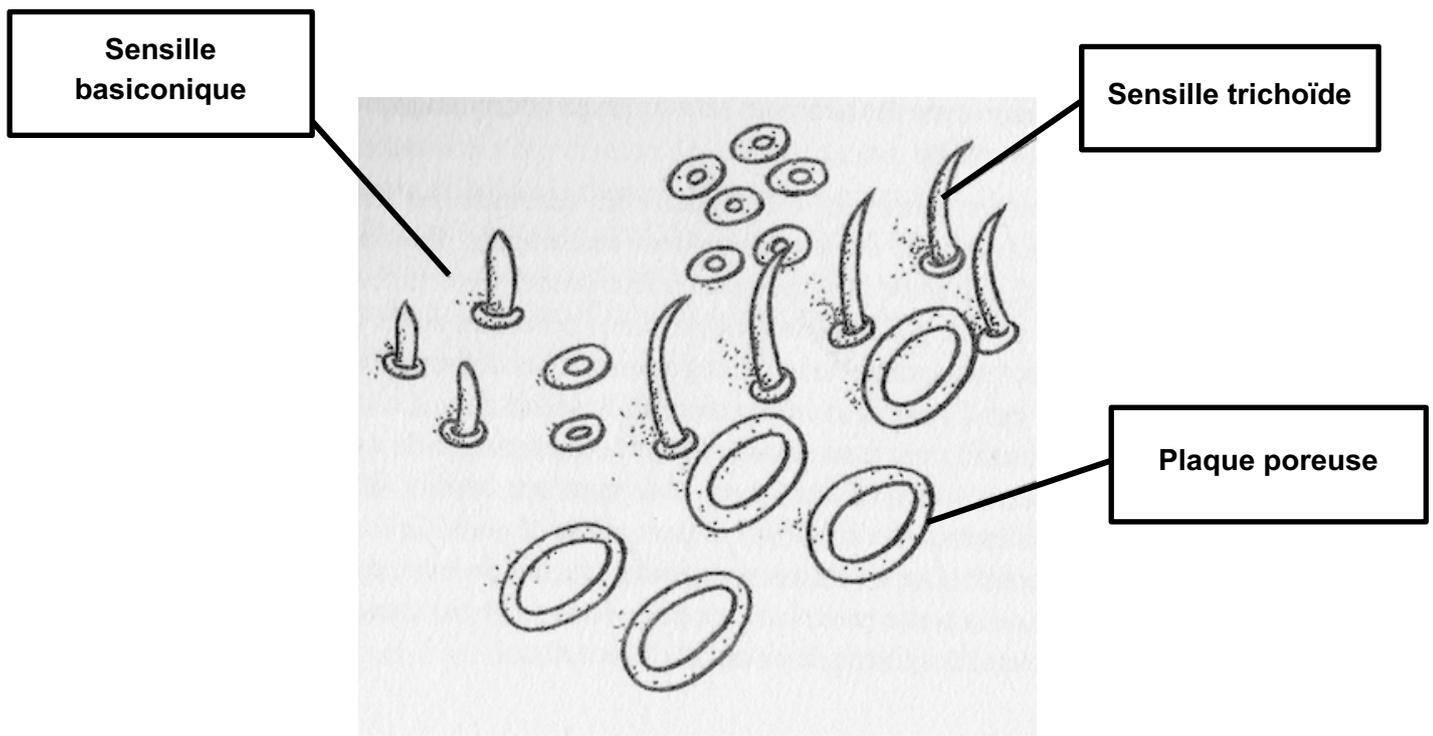


Figure 5 : Aspect de la surface antennaire (x 1 500) observé au microscope électronique (11)

### **Les pièces buccales :**

L'appareil buccal de l'abeille est composé d'un labre, des mandibules et d'un proboscis.

# ABEILLE

*Apis Mellifera*

## APPAREIL BUCCAL ou TROPHI

( Le clypeus n'est montré qu'en partie et le labre pas du tout, pour permettre de visualiser les pièces buccales)

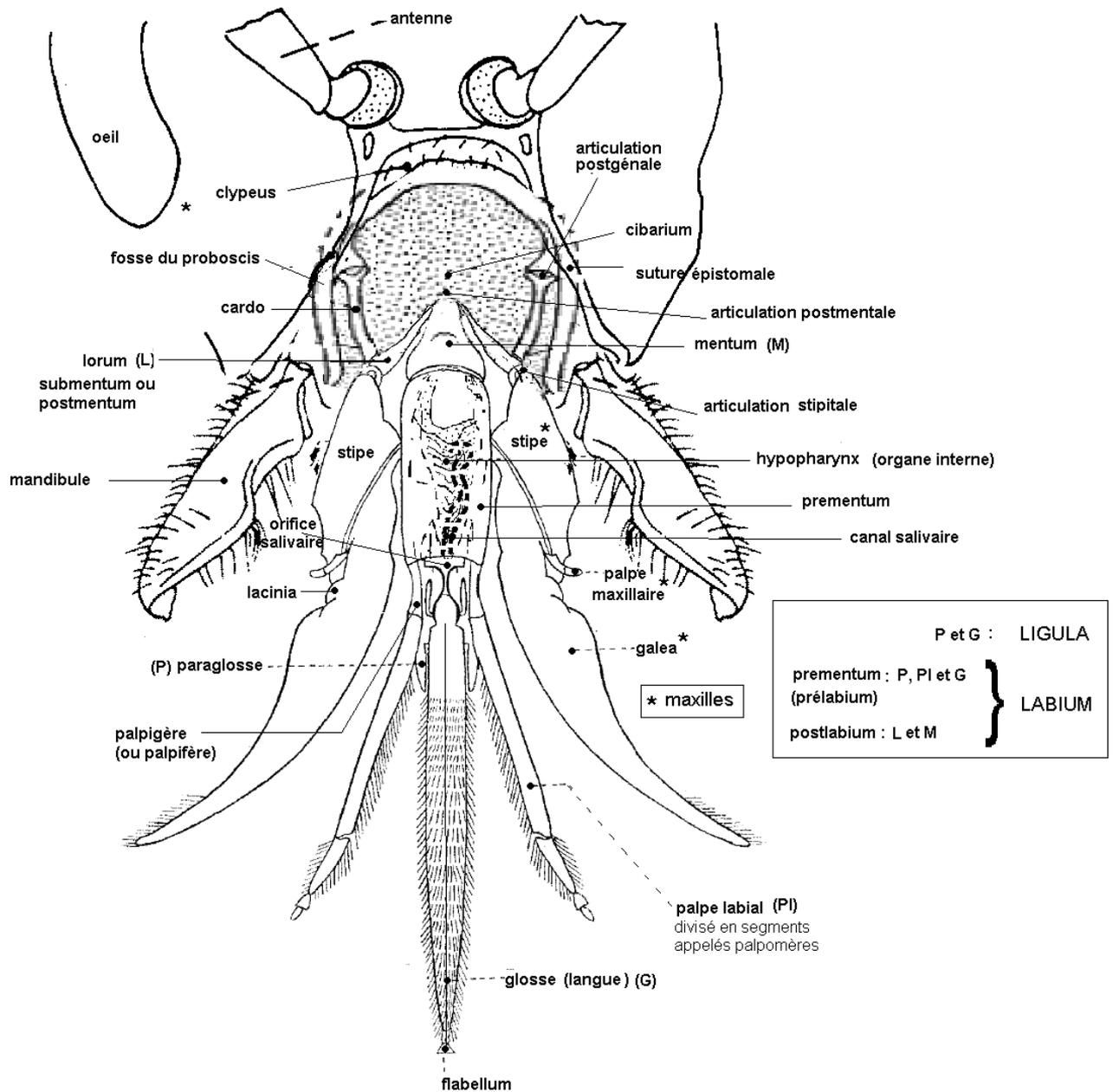


Figure 6 : Appareil buccal de l'abeille (12)

- **Le labre** : c'est la lèvre supérieure, il ferme la cavité buccale vers l'avant sous le clypeus situé sous les antennes.

- **Les mandibules** : ce sont les mâchoires supérieures, elles ferment la cavité buccale sur les côtés. Elles ne sont pas dentées, leur face antérieure est concave et permet l'écoulement des sécrétions des glandes mandibulaires. Les glandes mandibulaires sécrètent de nombreuses phéromones (phéromone d'alarme, phéromones sexuelles, phéromones de traces, ...) ainsi qu'une partie de la gelée royale, l'autre partie étant produite par les glandes hypopharyngiennes. Elles vont aussi permettre de malaxer et façonner la cire et la propolis (13).
- **Le proboscis** : il ferme la cavité buccale vers l'arrière. C'est un complexe maxillo-labial évaginable sous forme de « tube ». Il est composé de plusieurs pièces buccales :
  - **Les maxilles** comprenant : un cardo, un stipe, une lacinia, une galéa et un palpe maxillaire qui vont servir à aspirer le nectar. L'appareil d'aspiration velu mesure de 6 à 7 mm de long .
  - **Le labium** : qui regroupe, d'avant en arrière : le prélabium avec la ligula (qui comprend : le paraglosse et la glosse, le palpe labial qui est divisé chez l'insecte en 1 à 4 segments que l'on nomme les palpigères et le prementum) et le postlabium (qui comprend : le lorum et le mentum) (12).

## 2. **Le thorax**

Le thorax porte les deux paires d'ailes et les trois paires de pattes. Il est divisé en 3 segments (14). Chaque segment porte une paire de pattes. Le premier segment s'appelle le propendium le second et troisième segment portent chacun une paire d'ailes. Le thorax a une fonction locomotrice et de collecte du pollen (15).

### **Les pattes :**

Elles sont composées de cinq pièces articulées et ont toutes la même structure :

- coxa
- trochanter qui relie de coxa au fémur
- fémur
- tibia
- tarse

Chaque paire de pattes a des fonctions bien définies et des structures spécialisées (16). Les extrémités des pattes comportent des coussinets qui assurent l'adhésion aux surfaces, et des griffes qui permettent à l'abeille de s'accrocher aux surfaces.

Les pattes avant et arrière comportent des particularités propres à chacune.

### **Les pattes antérieures :**

Elles vont servir à broser les antennes de l'abeille et les garder propre. Les pattes antérieures possèdent un « peigne » composé d'une entaille et d'un ergot situé entre le tibia et le tarse (17).

### **Les pattes médianes :**

Elles servent au nettoyage du thorax, des poussières, du pollen et au transfert de matériaux des pattes avant vers les pattes arrière. Le coxa permet les mouvements avant et arrière.

Le tarse est formé par cinq segments : un basitarse et quatre tarsomères. À l'extrémité du tarse on peut observer la présence de griffes et de coussinets.

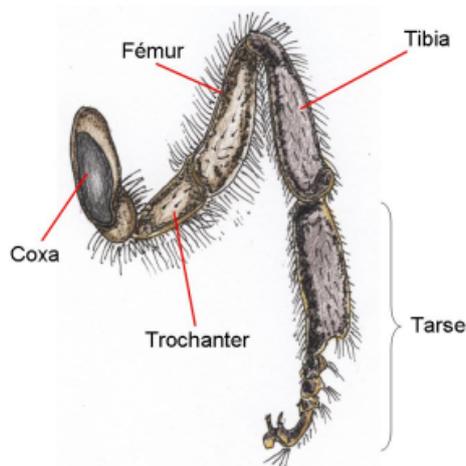


Figure 7 : Patte médiane de l'abeille (18)

**Les pattes postérieures :** La troisième paire de pattes est spécifiquement équipée pour recevoir le pollen et la propolis.

- **Face externe :** on observe la présence de corbeilles à pollen pourvues de poils sur lesquels le pollen ou la propolis peuvent s'accrocher.

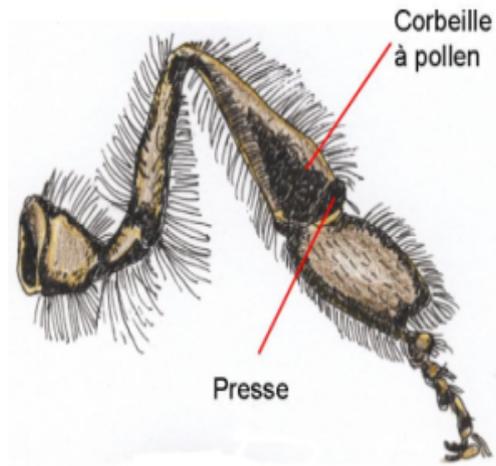


Figure 8 : Vue externe de la patte postérieure de l'abeille (19)

- **Face intérieure** : la présence de peignes et d'un râteau vont servir à manipuler le pollen afin de constituer une pelote qui sera placée dans la corbeille.

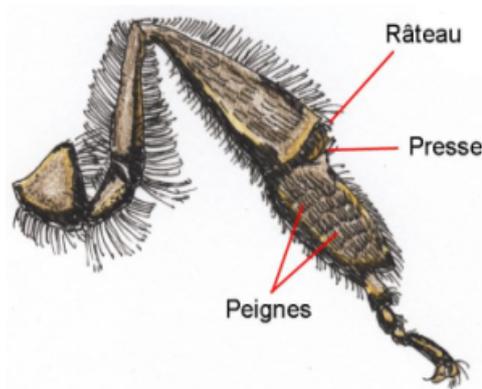


Figure 9 : Vue intérieure de la patte postérieure de l'abeille (19)

### **Les ailes**

L'abeille possède deux paires d'ailes. Les ailes antérieures sont plus grandes que les ailes postérieures, ce sont des excroissances de l'exosquelette. Elles sont formées de replis membraneux parcourus par des vaisseaux hémolympatiques qui apportent le sang jusqu'à l'extrémité des ailes. L'action des ailes est assurée par les muscles alaires. Au cours du vol les deux paires d'ailes s'attachent par des crochets : les hamulis, de telle sorte que les ailes ne forment qu'un seul plan (19).

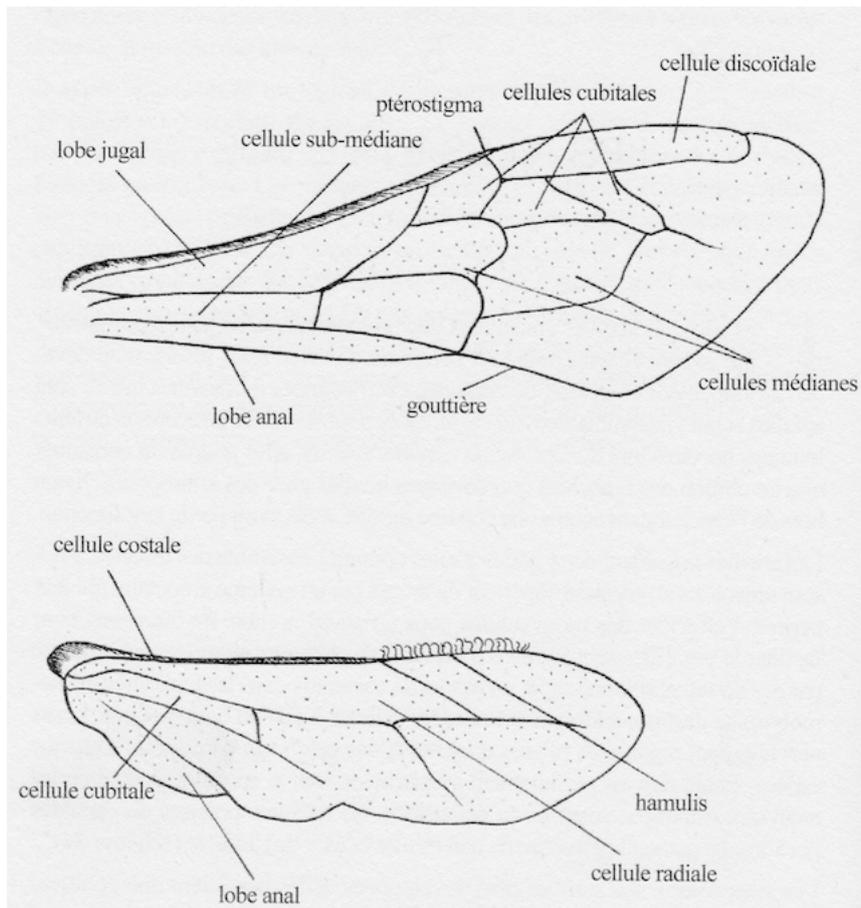


Figure 10 : Morphologie de l'aile antérieure et de l'aile postérieure (11)

### 3. L'abdomen

Il est formé de sept segments chez la femelle et de huit chez le mâle. Il est velu et renferme les organes internes ainsi que le dard. Chaque segment est composé d'une sternite (demi-anneau ventral) et d'une tergite (demi-anneau dorsal) reliées par des membranes. On retrouve aussi les glandes cirières sur les quatre dernières sternites et les glandes de Nasonov entre l'avant dernière et la dernière tergite.

L'abeille possède un dard ou aiguillon muni de deux lancettes reliées à un sac à venin. Les deux lancettes sont barbelées à leur extrémité et possèdent de fins canaux par lesquels s'écoule le venin.

L'abeille ne pique qu'une seule fois en cas d'agression pour défendre sa ruche. En cas de piqûre, une fois son aiguillon barbelé planté ce dernier arrache une partie de son abdomen, et l'abeille finira par mourir rapidement.

## II. L'ANATOMIE INTERNE DE L'ABEILLE

L'abdomen renferme tous les organes internes de l'abeille.

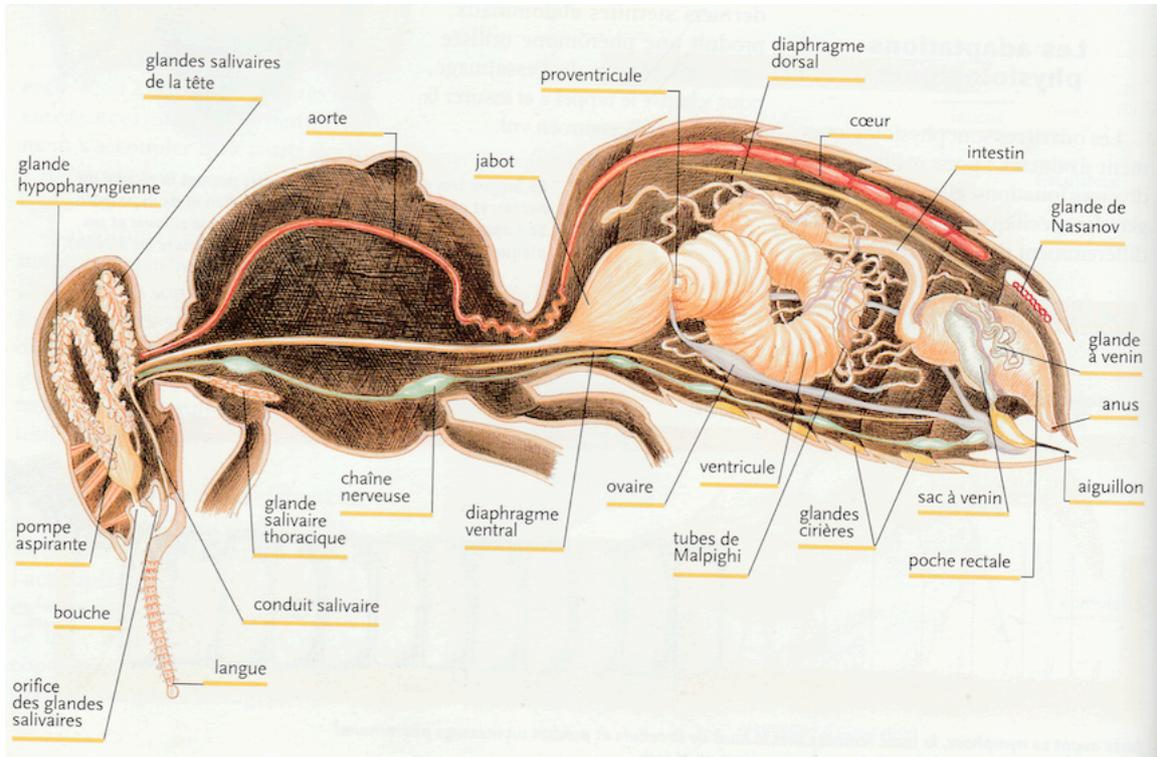


Figure 11 : L'anatomie interne de l'abeille (7)

### 1. Le système respiratoire

Il permet les échanges gazeux c'est-à-dire l'absorption d'oxygène et le rejet du dioxyde de carbone (20).

L'abeille ne possède pas de poumons. L'apport d'oxygène extérieur va se faire par les stigmates (2 paires thoraciques et 8 paires abdominales) qui s'abouchent à des trachées reliées à des sacs aériens au nombre de quinze. Les trachéoles (ramification des sacs aériens) apportent l'oxygène aux organes. Elles vont permettre les échanges gazeux, elles se contractent et se dilatent suivant les mouvements de l'abdomen de l'abeille. La partie terminale, au contact des tissus, est remplie d'eau : c'est là que l'échange gazeux de l'air est effectué, par diffusion, pour que l'oxygène parvienne aux tissus (21).

Le premier stigmate ne peut pas se refermer totalement tandis que les autres stigmates peuvent se fermer à l'aide d'une valve occlusive qui permet de contrôler la circulation de l'air (22).

D'autre part, le gaz carbonique est éliminé par l'hémolymphe, il existe donc un lien entre le système respiratoire et le système circulatoire.

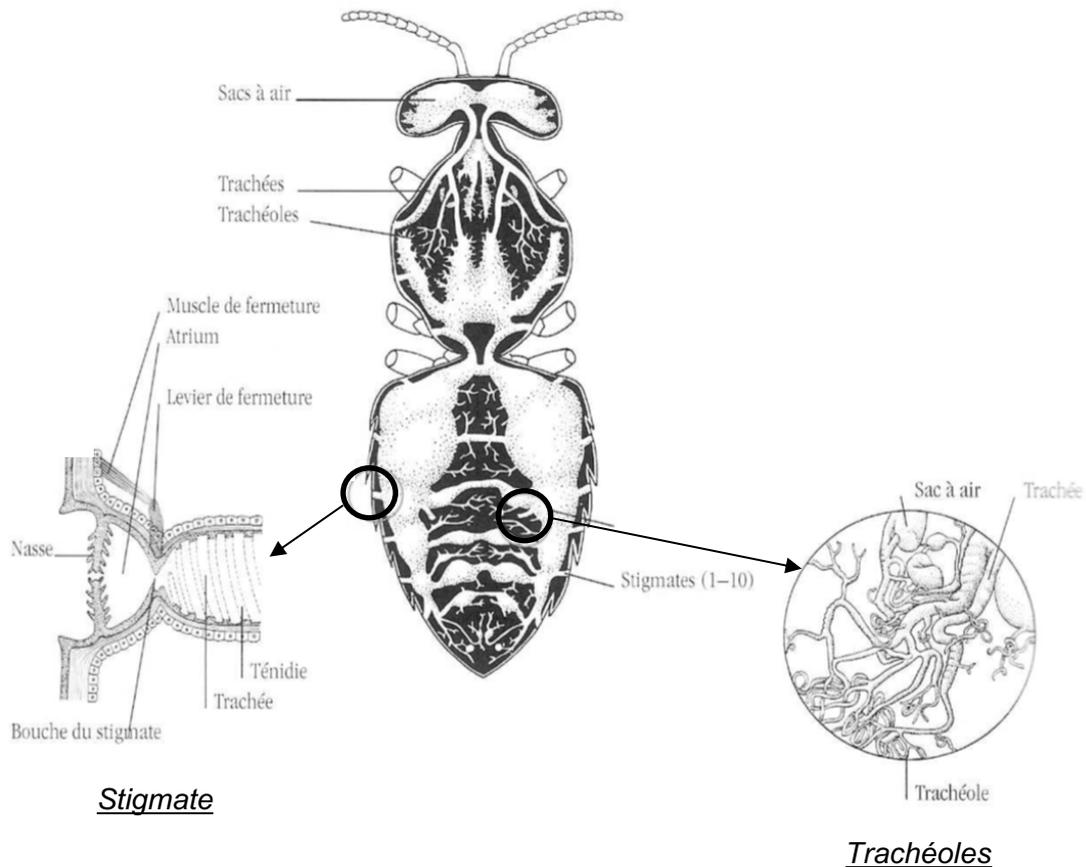


Figure 12 : Système respiratoire de l'abeille (23)

## 2. L'appareil circulatoire

L'abeille étant dépourvue d'hémoglobine et de réseau de vaisseaux sanguins on parle d'hémolymphe plutôt que de sang. L'hémolymphe est incolore et joue un rôle mineur dans le transport d'oxygène qui est présent sous forme dissoute. Les organes baignent dans l'hémolymphe et y puisent les éléments oxygénant et nutritifs et rejettent les déchets tels que le dioxyde de carbone (24).

L'hémolymphe est composée essentiellement d'eau, de sels minéraux, de glucose, de glucides, de protéines et d'acides aminés ainsi que de cellules sanguines (25).

Une sorte de cœur rudimentaire (vaisseau dorsal) au niveau abdominal s'étend jusqu'à la tête. Ce vaisseau dorsal est fermé au bout de l'abdomen et ouvert au niveau de la tête, il est composé de cinq ostioles situés à l'extrémité des cinq ventricules. En se contractant les ventricules chassent l'hémolymphe vers la tête et le thorax où elle va être évacuée (22).

Une fois dans l'abdomen, l'hémolymphe circule librement, elle est brassée par le diaphragme dorsal et ventral avant d'être aspirée de nouveau par les ostioles.

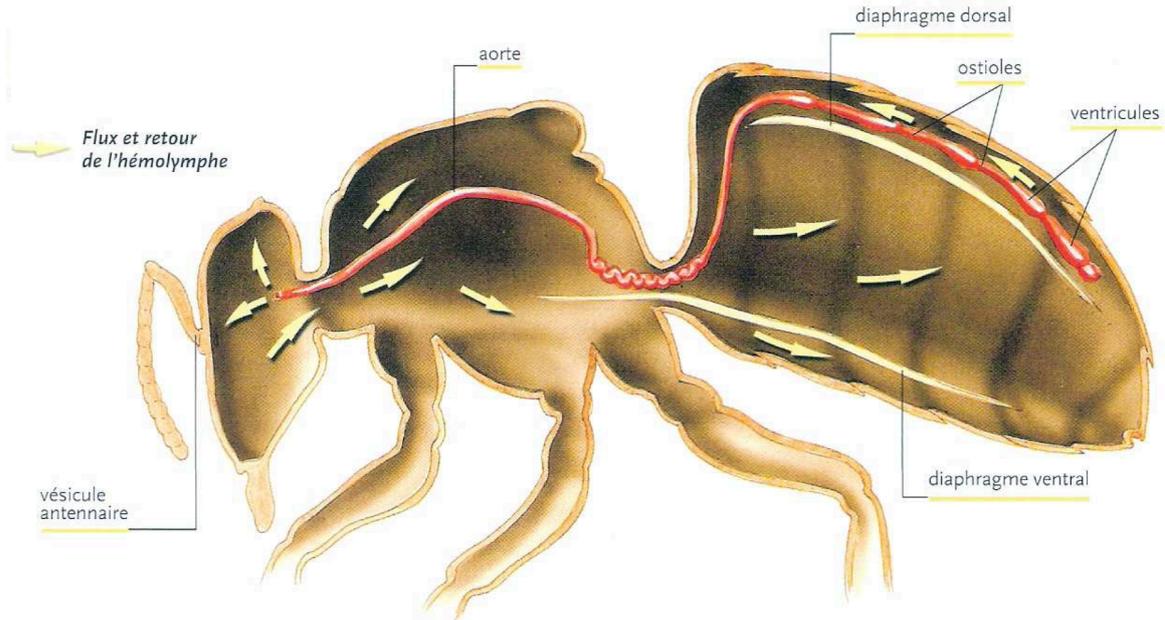


Figure 13 : Système circulatoire de l'abeille (7)

### 3. Le système nerveux

Le cerveau de l'abeille n'est pas le seul centre de commande, une chaîne nerveuse ventrale composée de 7 ganglions sont considérés comme plusieurs centres nerveux locaux et autonomes. On peut dire que le système nerveux central est délocalisé même si le cerveau assure la coordination des mouvements (26).

Les ganglions, en fonction de leur localisation, contrôlent les organes des sens et les muscles. Les ganglions thoraciques commandent les ailes et les pattes tandis que les ganglions de l'abdomen commandent le dard.

D'autre part, le cerveau est composé de ganglions céphaliques.

Il est divisé en trois parties :

- Le **protocérébron** contrôle les yeux.
- Le **deutocérébron** contrôle les organes sensoriels des antennes.
- Le **tritocérébron** contrôle les pièces buccales et la lèvre supérieure.

Le ganglion sous-œsophagien, situé à proximité du cerveau, contrôle les influx nerveux envoyés au proboscis et aux mandibules.

Le ganglion 1 contrôle les influx nerveux envoyés vers les pattes antérieures.

Le ganglion 2 contrôle les influx nerveux envoyés à la seconde paire de pattes et aux muscles alaires.

Le ganglion 7, lui, contrôle les organes reproducteurs et les muscles de l'appareil vulnérant (21).

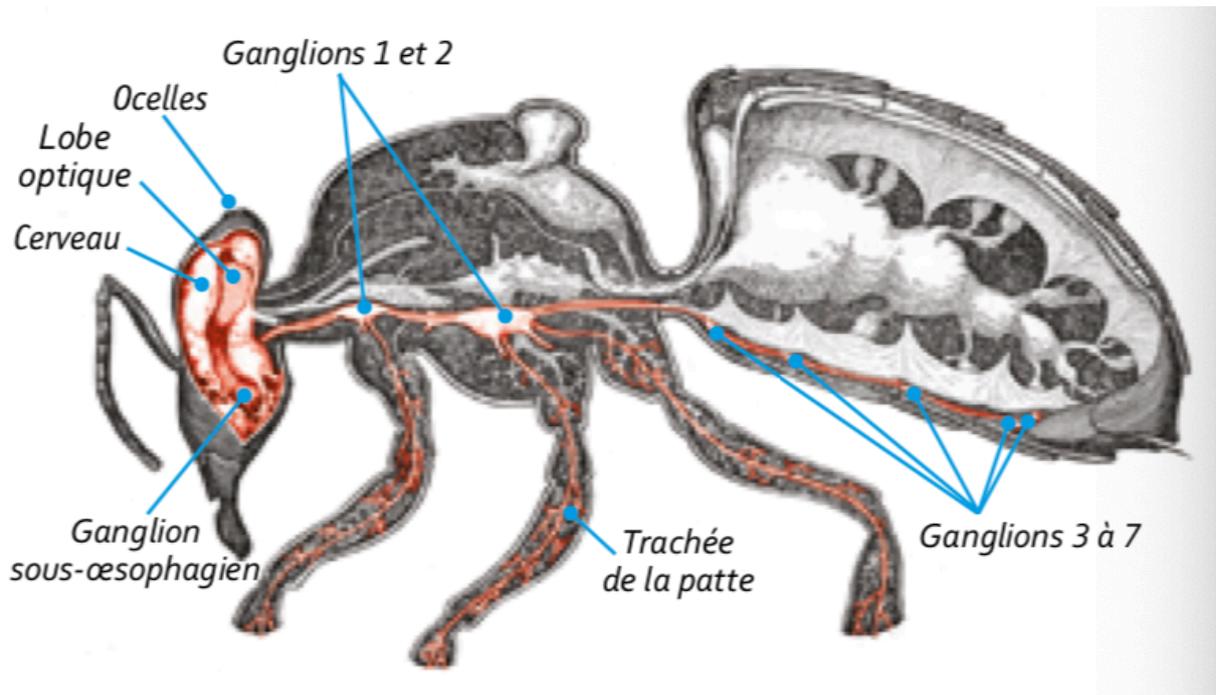


Figure 14 : Coupe longitudinale d'une abeille détaillant le système nerveux (21)

Beaucoup d'insecticides ont un effet neurologique et vont perturber les transmissions nerveuses.

#### 4. Le système digestif

Le système digestif de l'abeille est constitué de la bouche, où débouchent les glandes salivaires et cervicales, le tube digestif et le système excréteur.

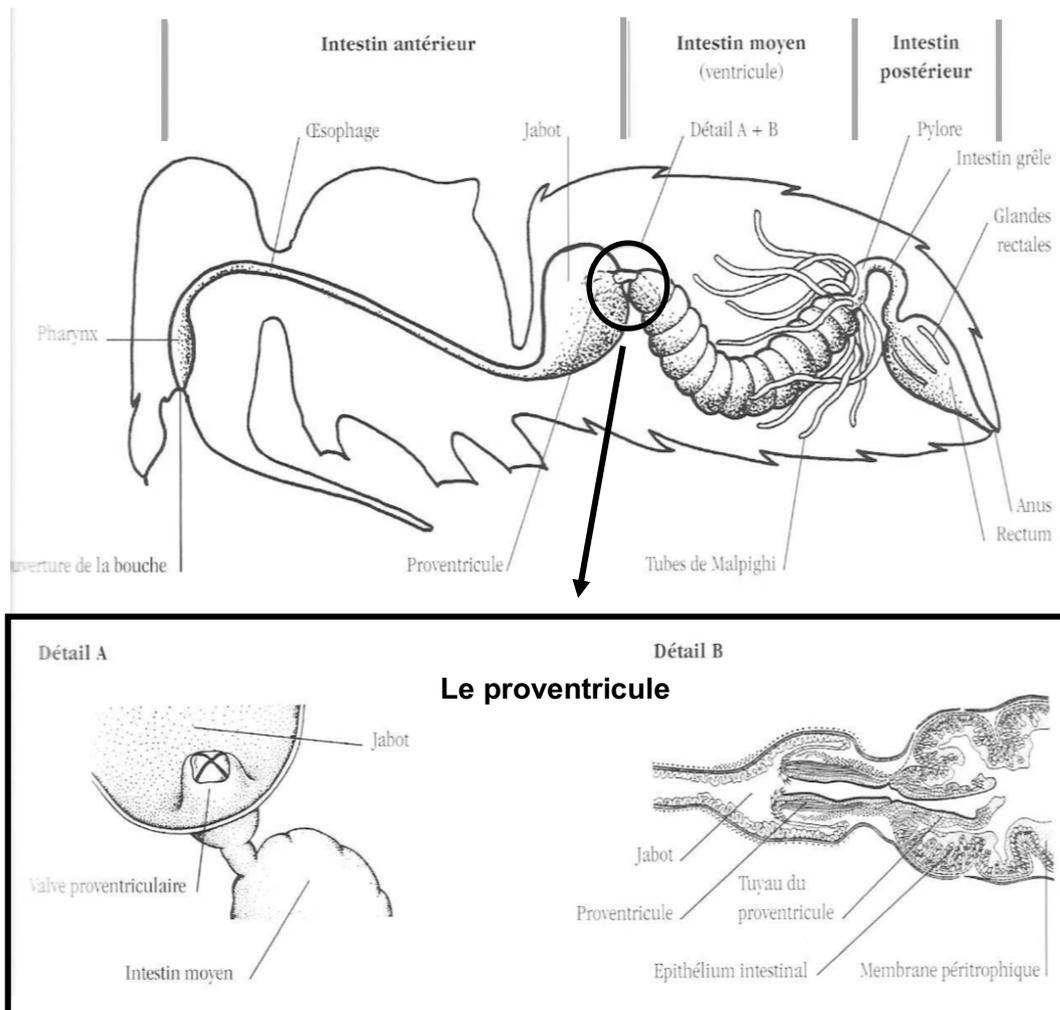


Figure 15 : Système digestif de l'abeille (1)

Le tube digestif est divisé en trois parties :

- **Intestin antérieur** : il comprend le pharynx qui permet de pomper le nectar, l'œsophage et le jabot. Le jabot a une fonction de transport et de stockage de nourriture, il peut contenir jusqu'à 70 mL de liquide. Il sert de stockage du nectar ou de miel. Le nectar va être régurgité afin de former du miel (27).
- **Intestin moyen** : il est séparé de l'intestin antérieur par le proventricule, cela permet d'éviter les reflux en retenant le contenu de l'estomac. L'intestin moyen est composé du ventricule qui correspond à l'estomac de l'abeille. C'est le siège de la digestion, les éléments nutritifs vont être absorbés et transférés dans l'hémolymphe afin d'être absorbés par les différents organes. Le pylore sépare l'intestin moyen du postérieur, à cet endroit, les tubes de Malpighi (filaments) baignent dans l'hémolymphe.

Ils assurent un rôle de filtration afin d'éliminer les déchets du métabolisme (l'équivalent de nos reins) (27).

- **Intestin postérieur** : il est composé de l'intestin grêle et du rectum qui sert principalement de stockage des excréments.

Les glandes annexes vont avoir un rôle autre que la digestion des aliments :

- **Les glandes hypopharyngiennes** : elles sont situées au niveau de la tête et produisent une sécrétion claire qui correspond à la partie protéinée de la gelée royale chez les jeunes abeilles nourrices. Chez la butineuse, ces glandes produisent une enzyme : l'*invertase* qui transforme le nectar en miel en modifiant chimiquement les sucres qui le composent. Le saccharose est transformé en glucose et en fructose (28).
- **Les glandes mandibulaires** : elles sont situées à la base des mandibules. Elles interviennent dans la sécrétion de la gelée royale et dans l'élaboration de la cire comme solvant. Elles sécrètent des phéromones chez la reine dont le rôle est central dans la cohésion et la structure de la colonie.
- **Les glandes salivaires** : elles sont situées dans la tête et dans le thorax. Ces sécrétions servent à dissoudre et ramollir les substances que l'abeille travaille. Les sécrétions sont huileuses au niveau de la tête et sont utiles pour le travail des plaquettes de cire, tandis qu'elles sont aqueuses au niveau du thorax et servent à dissoudre le sucre cristallisé (29).

## **5. L'appareil vulnérant ou aiguillon**

Il est présent chez la reine et l'ouvrière et absent chez le mâle.

Il est composé :

- D'un appareil glandulaire qui sécrète le venin (glandes à venin) qui débouche dans la poche à venin.
- D'un appareil moteur qui permet la sortie de l'aiguillon et l'injection du venin grâce aux muscles qui permettent la projection du dard hors de la chambre.
- D'un dard formé de deux lancettes barbelées, qui coulissent à l'intérieur de l'aiguillon Gorgéret et percées de fins canaux d'où coule le venin.

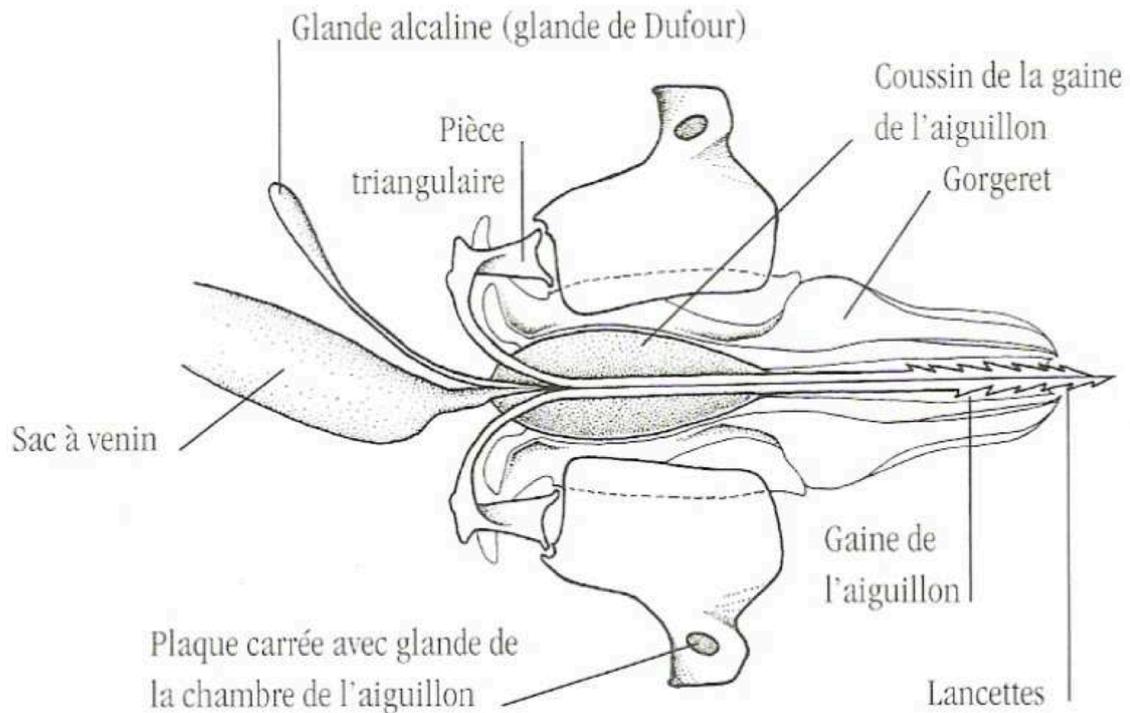


Figure 16 : Appareil vulnérant de l'abeille (1)

## 6. L'appareil reproducteur

La reine pond les œufs et assure la descendance de la colonie. Elle seule pond des œufs qui donneront des femelles. Elle possède deux gros ovaires qui vont lui fournir les œufs nécessaires tout au long de sa vie. Ils sont reliés à la cavité vaginale par un oviducte et débouchent dans la chambre de l'aiguillon. Dans la cavité vaginale débouche la spermathèque qui renferme le sperme. L'œuf qui sort de l'oviducte est plaqué contre le repli de l'orifice de la spermathèque et une petite quantité de sperme rentre en contact pour la fécondation. La reine peut pondre des œufs non fécondés qui donneront des mâles. L'abeille ouvrière, ne pourra, elle, donner naissance qu'à des mâles (30).

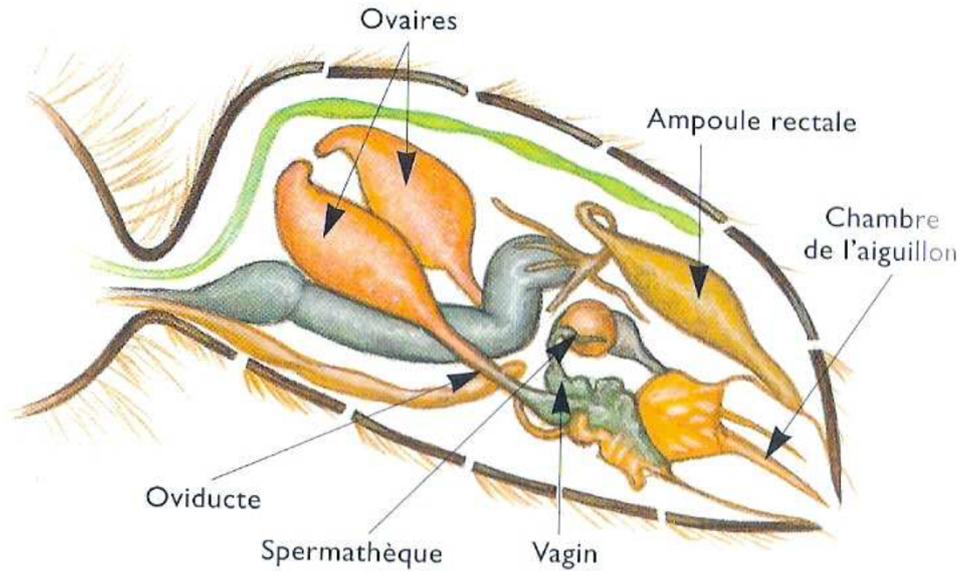


Figure 17 : Appareil génital femelle de la reine (1)

Le faux bourdon (mâle de l'abeille) est issu d'œuf non fécondé qui peut provenir de la reine ou des ouvrières. Il est muni de deux testicules produisant les spermatozoïdes qui sont conduits par les canaux déférents jusqu'à la vésicule séminale, où ils sont stockés. Les glandes à mucus produisent un mucus coagulant afin d'éviter l'écoulement de la semence hors des voies génitales de la reine. Le pénis est invaginé, il s'exvagine seulement lors de l'accouplement afin d'introduire dans la chambre de l'aiguillon de la reine le sperme. A l'issue de l'accouplement le mâle meurt, il ne s'accouple donc qu'une seule fois au cours de sa vie (30).

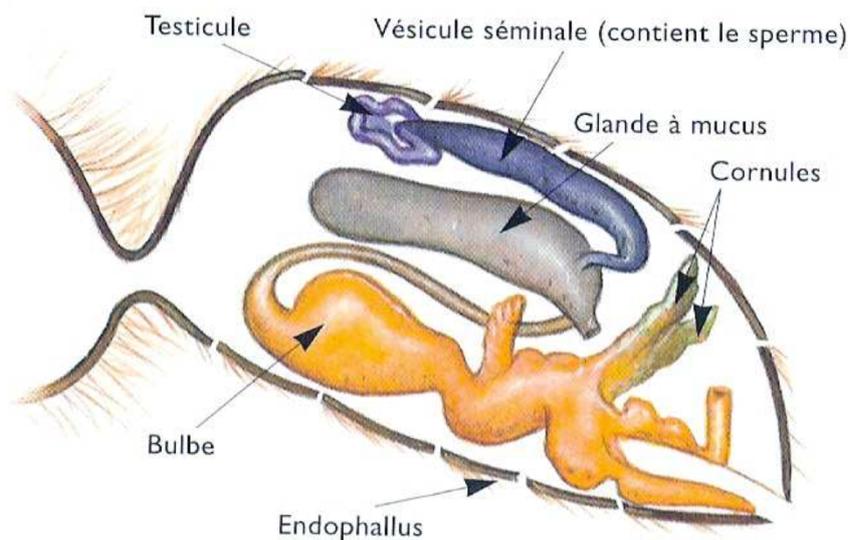


Figure 18 : Appareil génital du mâle de l'abeille (1)

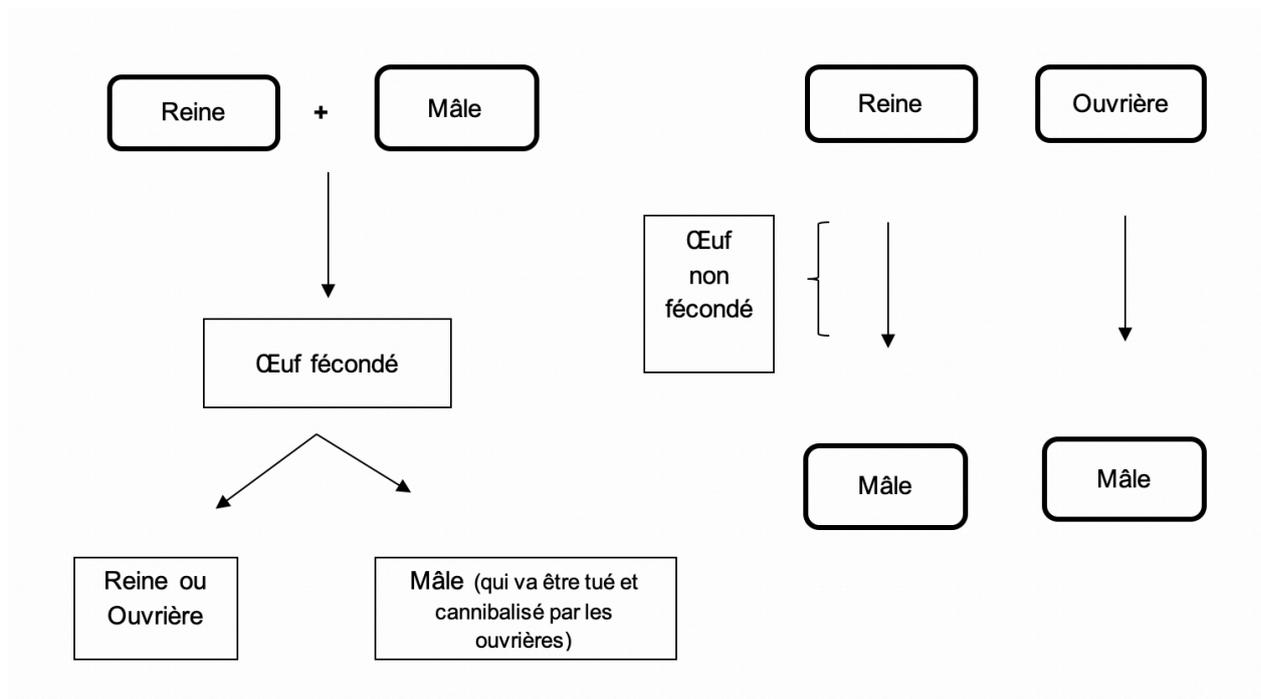


Figure 19 : Schéma illustrant la reproduction

### III. LE CYCLE DE DEVELOPPEMENT DES ABEILLES

Il est important de connaître le cycle de chaque membre de la ruche. Cela permet de mieux comprendre le fonctionnement de celle-ci. Dans une ruche, nous avons une reine, des abeilles et des faux-bourdon (les mâles).

#### 1. De l'œuf à l'imago

Si la reine pond un œuf fécondé, cela donne naissance à une ouvrière ou une reine en fonction des soins et de la nourriture apportées aux larves.

Il y a quatre stades de développement avant que l'abeille adulte naisse (31).

Le premier stade débute avec la ponte d'un œuf fécondé ou non qui se transforme en larve puis en pupe et enfin en imago.



Figure 20 : Le cycle de vie des abeilles (32)

### L'œuf

L'œuf est de couleur blanche nacré, cylindrique allongé et incurvé. Il est déposé verticalement dans l'alvéole lorsqu'il est pondu. Il mesure environ 1,5 mm de long, 0,5 mm de large et pèse environ 0,15 mg (31).



Figure 21 : Œuf d'abeille (32)

La membrane qui entoure l'œuf s'appelle le chorion, il est percé par un orifice : le micropyle, par lequel le spermatozoïde pénètre lors de la fécondation. L'œuf se sera fécondé ou non (33).

Au cours des trois jours suivant la ponte (en moyenne), l'œuf s'incline peu à peu au fond, devient blanc grisâtre et finit par se coucher au fond de l'alvéole. Il dissout sa membrane, l'œuf éclot et se transforme en larve.

Les temps de développement sont fonction des conditions climatiques.

## La larve

Elle a une forme identique à un ver blanc nacré et annelé et ne comporte qu'un tube digestif, son rôle se limite à se nourrir (32). Les abeilles nourricières leur déposent de la gelée royale dans les alvéoles. Au fur et à mesure que la larve grandit, elle mue à 5 reprises. Son poids augmente en fonction de sa nature (33).



Figure 22 : Larve d'abeille (32)

Le poids est multiplié par

- 900 fois son poids initial pour une ouvrière soit 140 mg à l'operculation
- 1700 fois son poids pour la reine soit 250 mg à l'operculation
- 2300 fois son poids pour le faux-bourdon soit 346 mg à l'operculation

L'ouvrière grandit de 2,7 à 17 mm et la reine de 4,2 à 16,5 mm à cette période (31).

Au 9<sup>ième</sup> jour, à ce stade la larve est fermée dans l'alvéole par un bouchon de cire : l'opercule. C'est la phase d'operculation. La larve file son cocon et débute sa transformation en nymphe. La durée du stade larvaire varie selon la caste : reine, ouvrière ou faux-bourdon.



Figure 23 : Nymphe d'abeille (32)

### **La pupe**

Le stade pupal est le dernier stade avec celui de l'imago. C'est à ce stade que se forme les organes sensitifs, les antennes, les pattes, les ailes et les organes de l'abdomen et du thorax que l'abeille aura toute sa vie (34).

En fonction de la couleur de la cuticule on pourra déterminer l'âge de la pupe. Celle-ci se fonce au fil du temps et mue une dernière fois.

Une fois les mandibules formées elles perforent l'opercule de cire, l'abeille adulte sort de l'alvéole bat des ailes et déploie ses antennes. La cuticule formée à l'extérieur sèche progressivement durant 12 heures, et l'abeille commence son travail.

Il pèse alors entre 80 et 292 mg en fonction de sa caste, la reine étant la plus lourde. On observe toutefois quelques variations de ce cycle de développement en fonction de la caste.

### **L'imago**

Lorsque l'abeille sort de l'alvéole elle est molle il faut 12 à 24 h pour que la cuticule externe sèche complètement.

8 à 10 jours après la naissance, le développement interne se poursuit.

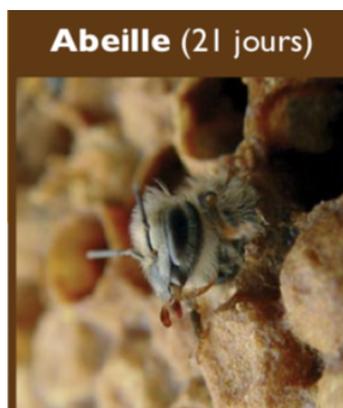


Figure 24 : Naissance de l'abeille (32)

Le temps de développement varie en fonction de la caste et des conditions internes à la ruche.

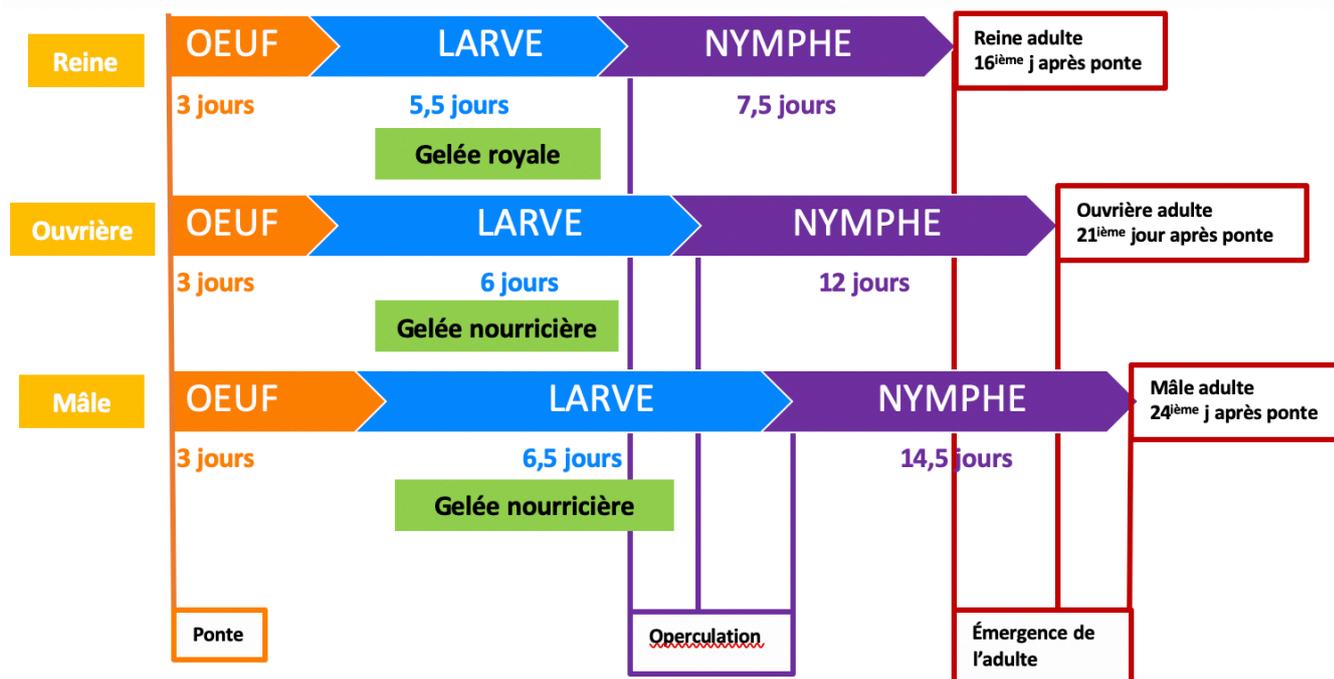


Figure 25 : Temps de développement des abeilles en fonction des castes

## 2. Le développement d'une ouvrière

Il faut 21 jours pour qu'un œuf d'abeille donne une ouvrière. Pendant son développement l'ouvrière est nourrie avec de la gelée royale seulement pendant 3 jours (7).

On peut résumer la chronologie de naissance d'une abeille ouvrière de la façon suivante :

1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	...	
<b>Œuf</b>			Larve						Pupe puis Imago													
			2 jours gelée royale						12 jours dans l'alvéole operculée													
			4 jours mélange miel/pollen/eau																			

Figure 26 : Chronologie de naissance d'une abeille

Durant sa vie, l'abeille va jouer **six rôles** en fonction de son âge et des besoins de la colonie.

Les quatre premiers jours de sa vie, l'**ouvrière** nettoie les alvéoles dans un premier temps puis elle entretient la ruche. Elle prépare les alvéoles à recevoir un œuf ou à stocker de la nourriture.

Dès le 6<sup>ième</sup> jour, elle est **nourrice** et entretient les larves des futures ouvrières et des mâles ou des abeilles royales. Dès le 6<sup>ième</sup> jour une jeune abeille voit le développement de ses glandes suffisamment avancées pour assumer le rôle de nourrice. En effet, la nourriture (gelée royale) reçue par les larves est en grande partie produite par les glandes hypo-pharyngiennes et mandibulaires des ouvrières. En fonction de la caste des larves l'alimentation est distribuée: sécrétions, pollen et miel seront déposés en proportions variables. Toutes les larves reçoivent la gelée royale durant 3 jours, seule la reine en reçoit toute sa vie.

Vers le 12<sup>ième</sup> jour, elle devient **bâtisseuse** : les glandes à cire de son abdomen sont développées, elle travaille uniquement à la confection des rayons de cire. Cette tâche demande beaucoup d'énergie, raison pour laquelle l'abeille se gave de miel et de pollen avant la confection. Les glandes cirières des ouvrières produisent de petites écailles de cire qui sont pétries avec la salive et mises en place. Les travaux de construction sont de deux types: la construction d'alvéoles dans les rayons et les réparations ultérieures. Il existe trois types de cellules : les plus petites pour les ouvrières, celles légèrement plus grandes pour les faux-bourdon qui sont situées en périphérie des rayons et les cellules de reines de taille très nettement supérieure.

Vers le 15<sup>ième</sup> jour, elle devient **manutentionnaire** : elle aspire le nectar ou le pollen des butineuses qui reviennent à la ruche. La receveuse régurgite et ingurgite le nectar à de nombreuses reprises afin de déshydrater le nectar. Des enzymes nécessaires à la fabrication du miel sont sécrétées par l'abeille. L'abeille s'arrête quand le miel ne contient plus que 18% d'humidité.

Autour du 17<sup>ième</sup> et 18<sup>ième</sup> jour, elle devient **ventileuse** le but étant de maintenir un taux de CO<sub>2</sub>, une température intérieure (32 et 36°C) et un taux d'hygrométrie le plus bas possible.

Du 18<sup>ième</sup> au 21<sup>ième</sup> jour, elle est **gardienne** et monte la garde à l'entrée de la ruche pour en chasser tous les intrus, guêpes, parasites, abeilles pilleuses, papillons, c'est à l'odeur que les abeilles se reconnaissent.

A partir du 22<sup>ième</sup> jour, la **butineuse** est chargée de récolter dans l'environnement les éléments nutritifs nécessaires à la colonie.

### 3. Le développement de la reine

Il faut 16 jours pour qu'un œuf d'abeille donne une reine. Elles sont exclusivement nourries avec de la gelée royale pendant tout le développement (7).

On peut résumer la chronologie de naissance de la reine de la façon suivante :

1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	
Œuf			Larve					Pupe puis Imago								
			5 jour ½ de gelée royale					7 jour ½ dans l'alvéole operculée								...

Figure 27 : Chronologie de naissance de la reine

La reine à deux activités principales :

- La ponte des œufs
- La sécrétion de phéromones afin de diriger toutes les activités de la colonie.

### 4. Le développement des faux- bourdons

Les faux bourdons, moins nombreux sont les "fécondeurs" de la reine. Ils ne sont pas capables de se nourrir par eux-mêmes au début de leur vie et sont nourris par les ouvrières. Leur mission est de féconder la reine (7).

On peut résumer la chronologie de naissance des faux-bourdons de la façon suivante :

1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23	24	...
Œuf			Larve					Pupe puis Imago																
			6 jours ½ mélange de gelée royale/miel/pollen/eau					14 jour ½ dans l'alvéole operculée																

Figure 28 : Chronologie de naissance des faux-bourdons

### 5. La durée de vie des abeilles

#### Les ouvrières

- de 13 à 38 jours en été
- de 30 à 60 jours au printemps
- environ 140 jours en hiver

## **La reine**

Elle peut vivre de 1 à 3 ans. Le record observé est de 8 ans.

## **Les faux-bourdon**

- de 21 à 32 jours au printemps et en début d'été
- jusqu'à 90 jours à la fin de l'été et en automne

## **6. La nutrition des abeilles adultes**

Les ouvrières : elles se nourrissent de pollen et de miel qui leur fournissent l'énergie nécessaire à la réalisation des différentes tâches. Les reines, elles, sont nourries de gelée royale par les ouvrières. Les faux-bourdons sont nourris juste après leur naissance, par les ouvrières avec du pollen et du miel. Ensuite, ils se nourrissent seuls de miel (1).

## **PARTIE II : LE MIEL**

---

### **I. LA RECOLTE DU MIEL**

#### **1. Les abeilles et la pollinisation**

En France, environ 70 % des 6 000 espèces de plantes répertoriées sont pollinisées par les abeilles et certaines plantes en dépendent totalement.

Abeilles et fleurs sont indissociables. L'abeille est un insecte indispensable à l'équilibre des écosystèmes dans lesquels elle évolue. Leurs relations mutuellement bénéfiques sont à l'origine de la biodiversité végétale.



Figure 29 : Abeille domestique, genre *Apis*. © Denis Bourgeois (Arthropologia)

En effet, elles participent activement à la reproduction sexuée de nombreuses espèces végétales. Les fleurs ont besoin des abeilles pour se reproduire. Pour les attirer, elles produisent une substance sucrée : le nectar, dont se nourrit l'abeille.

En recueillant du nectar, une partie du pollen des étamines se colle aux poils de l'abeille et sur ses pattes afin de l'exposer au cœur des organes reproducteurs des autres plantes. Les fleurs vont recevoir sur leur pistil (élément femelle) le pollen produit par les étamines (élément mâle) d'autres fleurs, ce qui fait d'elle un des insectes les plus efficace en matière de pollinisation.

Lors de la récolte du pollen l'abeille l'humecte de quelques gouttes de nectar régurgitées. Avec les pattes, elle fabrique une pelote de pollen collante, qu'elle stocke dans le «panier à pollen» situé sur les pattes arrière (35).

Les abeilles butinent également le miellat. Cette substance se présente sous forme de gouttelettes sucrées fixées sur les feuilles des végétaux. Le miellat est fabriqué par les pucerons et les cochenilles qui se nourrissent de sève et rejettent ce qu'ils ont en trop sous forme de petites gouttelettes (35).

Les butineuses enrichissent le nectar et le miellat en y ajoutant de la salive et une enzyme : l'*invertase* qui entame la transformation du saccharose en un mélange de glucose et de lévulose.

Lorsqu'elles rentrent à la ruche, les abeilles butineuses transmettent le nectar et le miellat stockés dans leur jabot à une autre abeille ouvrière et déposent aussi les pelotes de pollen formées. Les abeilles ouvrières se le transmettent à plusieurs reprises par trophallaxie afin de poursuivre la transformation des sucres par la salive (36).

Les abeilles secrètent le miel dans les alvéoles et le laisse sécher car il contient encore de l'eau (environ 50%). La température de la ruche est très importante, elle peut monter jusqu'à 30°C grâce à l'action des abeilles qui essaient d'enlever l'eau encore présente. La durée du séchage est variable et dépend du degré d'humidité dans le miel.

Après maturation, le miel contient au maximum 18% d'eau. Les alvéoles sont ensuite refermées pour être totalement imperméables (37).

Selon la plante, le taux de sucre va différer mais aussi la couleur (dû au pourcentage de pigments présents dans le nectar), les arômes et les vitamines. Chaque type de miel aura des propriétés différentes, en fonction de la plante butinée.

## **2. Le travail de l'apiculteur**

### **2.1. La récolte du miel**

La récolte s'opère à la fin de la floraison de la plante qui caractérisera le miel. Dans le cas d'un miel toutes fleurs, la récolte est effectuée lors de la fin de la floraison des plantes les plus tardives, c'est-à-dire fin août.



Figure 30 : Hausse de ruche

Afin de collecter les cadres situés dans la hausse de la ruche plusieurs étapes sont à respecter.

Tout d'abord il est nécessaire d'enfumer des abeilles afin de les endormir et permettre de travailler en sécurité. Cette fumée est issue de la combustion de bois et d'autres végétaux et déclenche chez l'abeille un stress qui inhibe le réflexe d'attaque (2).

L'objectif de l'enfumage est de faire croire aux abeilles qu'un incendie s'est déclaré dans la ruche afin qu'elles perdent de leur agressivité (38).

Ensuite, l'apiculteur peut décoller et brosser des cadres afin de ne pas emporter d'abeilles à la miellerie. Il faut vérifier que les rayons soient bien operculés sinon le miel ne se conserverait pas correctement. Une fois le miel récolté, la ruche est refermée, la hausse est transportée jusqu'à la miellerie.

## **2.2. Désoperculer**

Une fois arrivé à la miellerie, il faut désoperculer les cadres. Cette étape consiste à enlever la pellicule de cire qui obstrue les alvéoles gorgées de miel. L'opération s'effectue à l'aide d'un couteau à désoperculer en tranchant la couche de cire (7).



Figure 31 : Étape de la désoperculation

### **2.3. Extraction du miel**

On utilise une machine appelée extracteur qui fait jaillir le miel des rayons sans les abîmer. Grâce à cette méthode, la quasi-totalité du miel est récupéré (39). Il s'agit d'une cuve où sont disposés les cadres désoperculés. Ensuite une manivelle fait tourner les cadres. C'est par le biais de la force centrifuge que les gouttes de miel sont projetées sur les parois (40).



Figure 32 : Extracteur de miel

## 2.4. Filtrage du miel

A la sortie de l'extracteur, le miel contient des débris qu'il faut éliminer. C'est une grille située dans le maturateur, munie de filtres à mailles fines, qui va retirer les diverses particules de propolis, de cire, d'opercules, de pattes d'abeilles ou de pollen. La grille est constituée de deux filtres : le premier va retenir les résidus les plus gros et le filtre inférieur beaucoup plus fin va retenir les impuretés les plus fines. Une fois le miel filtré, les filtres sont retirés (7).

## 2.5. Maturation du miel

Après l'étape de filtration, le miel doit encore reposer 4 à 5 jours à une température de 20°C minimum dans le maturateur (7). Les maturateurs sont des grands récipients en inox munis d'une ouverture dans la partie inférieure.

Cette période de maturation est le temps nécessaire pour faire remonter l'ensemble des dernières impuretés à la surface. Cette écume formée est ensuite retirée avec une spatule avant le conditionnement.

## 2.6. Conditionnement du miel

Une fois prêt le miel peut être conditionné dans un pot fermé qui assure l'étanchéité (41).

## II. LES CARACTÉRISTIQUES ORGANOLEPTIQUES DU MIEL

Les miels récoltés peuvent être très divers tant par leur couleur, leur odeur, leur saveur et leur consistance.



Figure 33 : Échantillons de miel d'origines florales différentes

## **1. La couleur**

En effet, la couleur est fonction du nectar dont il est issu et donc des origines florales. Les miels auront différentes couleurs allant du blanc au noir. La couleur dorée étant la plus courante, elle correspond en général au miel toutes fleurs.

## **2. La consistance**

Le miel peut être fluide ou solide et peut varier au cours du temps. Cela est fonction de la variété du miel et donc de sa composition :

- de sa teneur en glucose et en fructose
- de la température
- sa teneur en eau

En effet le phénomène de cristallisation débute dès la mise en pot du miel, certains miels cristallisent dans les jours qui suivent la mise en pot (comme le miel de colza), alors que d'autres restent à l'état liquide pendant des années à température ambiante (comme le miel d'acacia). Pour les miels qui cristallisent rapidement, comme celui de bruyère par exemple, la mise en pot doit se faire à une température de 35 °C. Cette température correspond à la température à l'intérieur de la ruche et permet de conserver les propriétés du miel.

On peut définir la cristallisation comme un phénomène naturel par lequel les parties d'une substance à l'état liquide se rapprochent les unes des autres afin de former un corps solide.

La formation des cristaux se déroule en plusieurs étapes :

- **La phase de pré-cristallisation** : les molécules de sucre qui sont à l'intérieur du miel se cognent les unes aux autres et forment des agrégats.
- **La phase de formation des cristaux** : lorsque les conditions environnementales sont optimales, les agrégats se stabilisent et forment des petits cristaux.
- **La phase de croissance** : une fois stabilisés, les agrégats grossissent progressivement en attirant les molécules de sucre libres.

La teneur en eau joue un rôle important, plus la teneur en eau d'un miel est élevée, plus la solution de sucre sera diluée. Le rapport glucose/eau est un indicateur qui permet d'anticiper les réactions du miel.

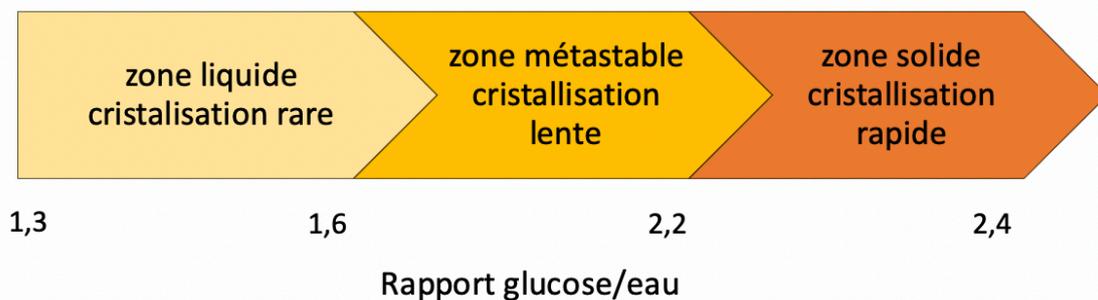
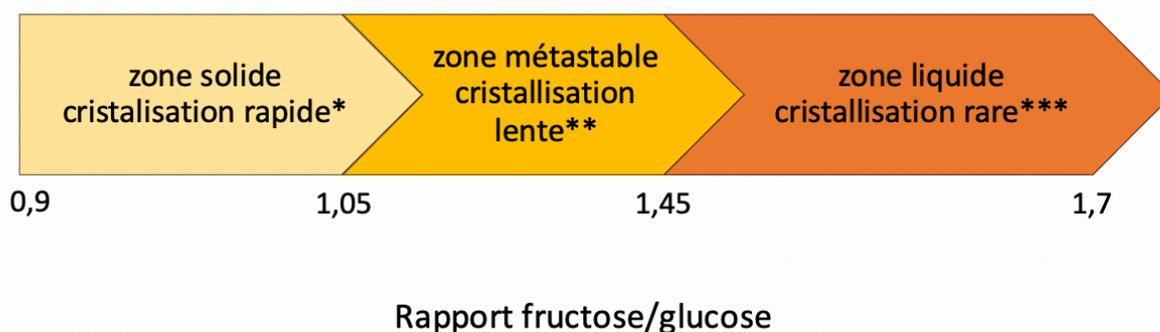


Figure 34 : Cristallisation des miels : Rapport glucose/ eau

En effet, plus le rapport est faible, plus le miel contient de l'eau et plus le miel aura tendance à rester à l'état liquide. Plus ce rapport est élevé plus le miel cristallisera rapidement (42).

De plus, le rapport fructose/ glucose va influencer la vitesse de cristallisation.



\*Cristallisation rapide : complète au bout d'un mois  
 \*\*cristallisation lente : 1 à 12 mois  
 \*\*\*Cristallisation rare : + de 12 mois

Figure 35 : Cristallisation des miels : Rapport fructose/ glucose

Un miel riche en fructose (comme le miel d'acacia) cristallisera lentement contrairement à un miel riche en glucose (comme le miel de colza) qui cristallisera très rapidement en 2 à 3 jours. Cela est dû au fait que le fructose est beaucoup plus soluble que le glucose.

### 3. Les arômes et saveurs

En fonction de l'origine florale du miel les arômes et saveurs seront différents. Le Centre Apicole de Recherche et d'Information (CARI) a réalisé une roue des odeurs et des arômes.

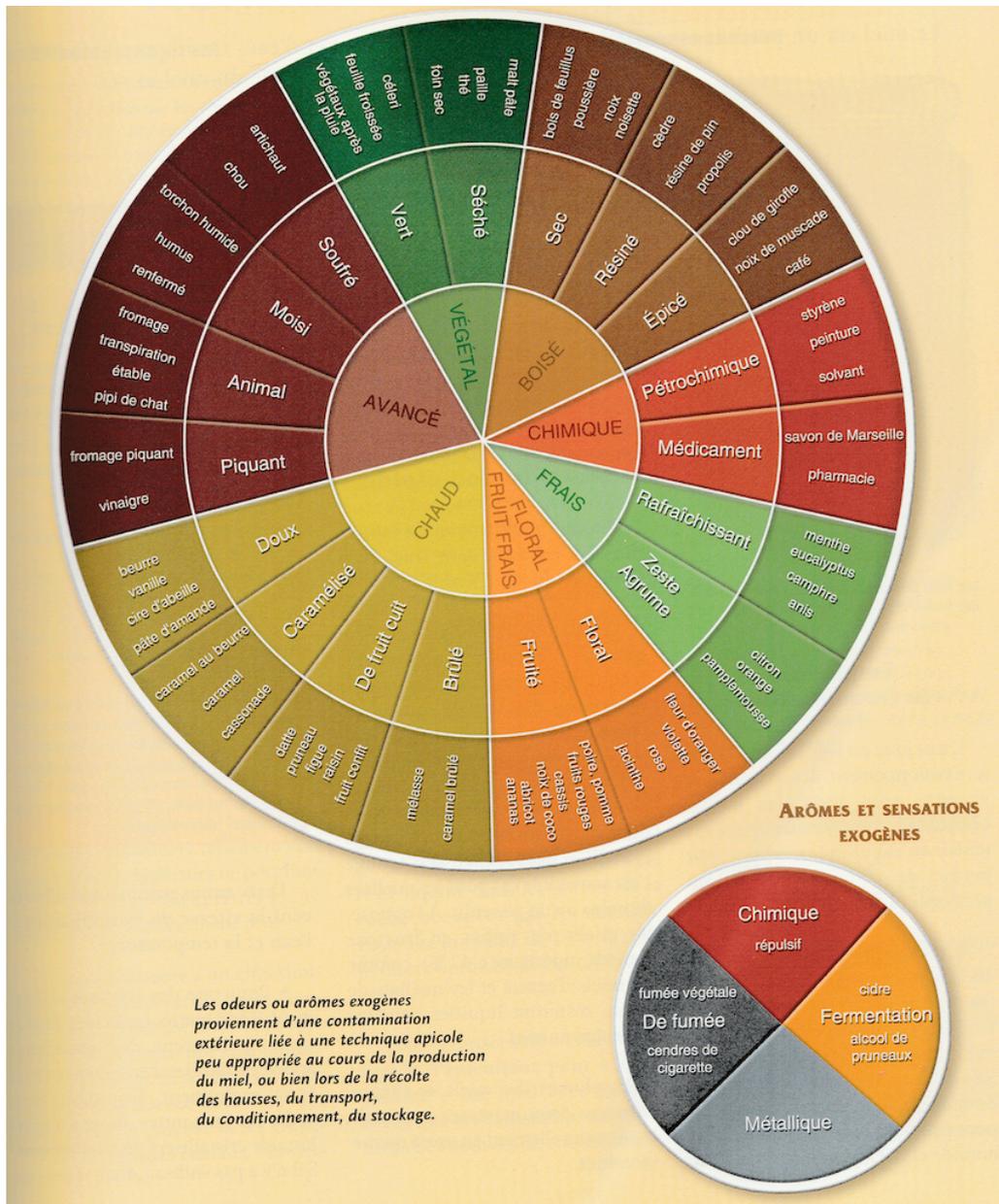


Figure 36 : La roue des odeurs et des arômes des miels (7)

### III. LA COMPOSITION CHIMIQUE DU MIEL

La composition chimique d'un miel dépend de son origine florale. Le pH acide de l'estomac, associé aux activités enzymatiques de l'*invertase* et l'*amylase*, donne naissance à une solution aqueuse sursaturée composée à 80% de sucres (43).

Il est composé en grande partie :

- d'hydrates de carbone (80%)
- d'eau (15 à 18%)
- d'autres substances tels que des minéraux, des protides, enzymes, vitamines, etc.

<b>Composition</b>	<b>Pourcentage total</b>	<b>Type de composés</b>	<b>Principaux composants</b>
Hydrates de carbone	75 à 80 %	Monosaccharides	Fructose +++, Glucose +++
		Disaccharides	Maltose++, Isomaltose, Saccharose +
		Polysaccharides	Erlose, raffinose, etc.
Eau	En moyenne 18%		
Substances diverses	En moyenne 3,5 %	Acides organiques (de 0,1 à 0,5 %)	Acide gluconique, oxalique, citrique, glucuronique, etc.
		Protéines , peptides, et acides aminés (0,2 à 2 %)	Défensine-1, proline, tyrosine, leucine, histidine, alanine, méthionine, etc.
		Vitamines	B1,2,3,5, 6, 8,9, C
		Enzymes sécrétées par les glandes hypopharyngiennes	Amylases $\alpha$ et $\beta$ , gluco-invertase, glucose-oxydase
		Enzymes du nectar	Catalase, amylase, phosphatases acides
		Minéraux	K, Ca, Na, Mg, Mn, Fe, Cu, Se, S, Cl, Zn
Arômes		Esters	Méthylantranilate, Acétates, Méthyléthylcétone
		Aldéhydes et acétone	Formaldéhyde, acétaldéhyde, etc.
		Alcools	Méthanol, éthanol, isobutanol, etc.
Pigments		Caroténoïdes et flavonoïdes	
Lipides	Traces	Acides gras	Acide palmitique, butyrique, caprique, valérique, oléique, linoléique

Tableau 1 : Composition du miel (44)

## 1. Les sucres

Les hydrates de carbone constituent la partie la plus importante du miel. Le miel est composé essentiellement de monosaccharides (glucose et fructose) de disaccharides (maltose et saccharose) et de polysaccharides.

La présence de glucose et de fructose est due à l'action d'une enzyme : *l'invertase* sur le saccharose.

## 2. L'eau

La teneur en eau varie entre 15 et 20 %. En général la teneur moyenne est de 18 % afin d'éviter la fermentation et d'assurer une bonne conservation du miel.

## 3. Les minéraux

Les matières minérales ne sont présentes qu'à un taux faible. On retrouve du baryum, calcium, chrome, cobalt, cuivre, fer, potassium, sodium, silicium, magnésium, or, argent, manganèse, phosphore, césium, bore. Leur teneur dépend des plantes butinées par les abeilles et le type de sol sur lequel elles poussent. Cela confère au miel un intérêt nutritif supérieur à celui des sucres raffinés

## 4. Les enzymes

Les enzymes sont, entre autres, celles utiles à l'abeille pour la fabrication du miel mais elles peuvent aussi être d'origine végétale et proviennent des nectars.

On retrouve :

- **L'*invertase*** qui est responsable de la transformation du saccharose du nectar en fructose et glucose.
- **L'*amylase*** qui transforme l'amidon en glucose.
- **La *glucose oxydase*** qui libère du peroxyde d'hydrogène et de l'acide gluconique à partir du glucose.
- **La *catalase* et la *phosphatase*.**

→ Ces enzymes sont thermolabiles.

## 5. Les protéines

Le miel est pauvre en protéines, il contient cependant quelques acides aminés tels que la proline, de l'alanine, de la phénylalanine, de la tyrosine, de la leucine, de l'isoleucine et d'autres substances mineures (43).

Les peptides les plus abondants sont les isoformes de la défensine-1 et de la protéine de la gelée royale (MRJP : Major royal jelly protein).

## **6. Les vitamines**

Il s'agit essentiellement de vitamines du groupe B (B1, B2, B3, B5, B6, B8, B9) et la vitamine C. Les vitamines se retrouvent seulement à l'état de traces. Il n'y donc pas d'intérêt thérapeutique majeur.

## **7. Les acides organiques**

Le miel contient des acides, le plus important est l'acide gluconique provenant de l'activité de la glucose oxydase sur le glucose. Il est responsable de l'acidité du miel et module le pH, mais cette acidité n'est pas perceptible au goût car elle est masquée par la saveur sucrée.

Une vingtaine d'acides organiques sont également présents dans le miel mais dans des quantités moins importantes (acide citrique, etc.).

## **8. Les pigments**

Ils sont responsables de la coloration du miel, les principaux sont les caroténoïdes et les flavonoïdes.

Les flavonoïdes sont des produits du métabolisme des cellules végétales présents dans les parties aériennes des plantes. La quantité de flavonoïdes diffère en fonction des plantes. Ils appartiennent aux groupes des polyphénols et possèdent des propriétés anti-oxydantes très intéressantes (qui sont abordées dans une autre partie du manuscrit).

## **9. Différences entre miel de nectar et miel de miellat**

La principale différence entre un miel de nectar et un miel de miellat est la matière première récoltée :

- Le miel de nectar : l'abeille butine les fleurs.
- Le miel de miellat : cela implique l'intervention d'un intermédiaire (insectes piqueurs-suceurs : pucerons, cochenilles, etc.). Ils piquent les parties tendres des végétaux et se nourrissent des matières azotées contenues dans la sève. Le miellat correspond aux matières sucrées qu'ils ne peuvent pas digérer.

Le miel de miellat est de couleur plus sombre et possède un goût plus prononcé, il possède également d'autres sucres tels que le mélézitose ou l'erlose. Il est aussi plus riche en acides organiques, en azote et en minéraux. Ces différentes caractéristiques permettent d'identifier les miels de nectar des miels de miellat.

## **IV. LES PROPRIETES PHYSIQUES DU MIEL**

Le miel est un produit très complexe. Comme expliqué précédemment, sa composition est fonction de la plante à partir de laquelle il a été synthétisé. Selon la composition de ses sucres, les caractéristiques physico-chimiques seront différentes.

### **1. La densité**

Le miel a une densité relativement élevée qui varie entre 1,40 et 1,45 g/cm<sup>3</sup> à 20°C. Elle est fonction de la teneur en eau et de la composition chimique du miel (45).

### **2. La viscosité**

La viscosité se définit comme la résistance à l'écoulement d'une substance.

Le miel est un liquide visqueux et sa viscosité va dépendre de sa teneur en eau, de sa composition chimique et de sa température. La viscosité est élevée à basse température et décroît rapidement lorsque la température augmente (2).

### **3. La solubilité**

Le miel est soluble dans l'eau et l'alcool dilué mais insoluble dans l'éthanol, le chloroforme, l'éther, et le benzène.

### **4. Le pH**

Le miel est acide, cela est essentiellement due à la présence de l'acide gluconique et l'acide citrique.

Les miels de nectar, très acides, ont un pH compris entre 3,5 et 4,5 tandis que les miels de miellat, moins acides, ont un pH supérieur à 4,5.

Le pH du miel semble être suffisamment bas pour ralentir ou éviter la croissance de nombreuses espèces de bactéries pathogènes.

### **5. La conductibilité**

La conductibilité électrique représente la capacité d'un corps à permettre le passage du courant électrique. Elle dépend de la teneur en minéraux et de l'acidité du miel : plus la teneur est élevée, plus la conductivité est élevée

Cela permet de distinguer facilement les miels de miellat des miels de nectar. En effet, les miels de miellat ( $> 0,8$  mS/cm) ont une conductibilité bien plus élevée que les miels de nectar ( $< 0,8$  mS/cm).

## **6. L'hygroscopie**

Le miel a tendance à absorber l'humidité de l'air. En effet, le fructose possède un grand pouvoir hygroscopique, cela variera donc en fonction de la composition du miel.

## **7. L'indice de réfraction**

L'indice de réfraction du miel est le résultat de chacun de ses constituants. La plupart des miels ont un indice de réfraction compris entre 1,47 et 1,50 pour une teneur en eau de 14 à 18% à une température de 20°C.

## **8. Le pouvoir rotatoire**

Le pouvoir rotatoire est la propriété qu'ont certains milieux à faire tourner le plan de polarisation d'un faisceau lumineux qui les traversent.

Les sucres ont la propriété de dévier la lumière polarisée car ils possèdent des carbones asymétriques. Certains à droite comme le D-Glucose et le saccharose, d'autres à gauche comme le D- Fructose (lévulose).

En raison de leur différente composition en sucres, tous les miels de nectar possèdent un pouvoir rotatoire négatif « Lévoyres » ( déviation du vecteur vers la gauche ) alors que c'est l'inverse pour les miels de miellat qui sont « Dextroyres » (déviation du vecteur vers la droite).

# **V. L'UTILISATION DU MIEL EN THERAPEUTIQUE**

Tous les miels ont des vertus thérapeutiques communes plus ou moins marquées selon leur origine florale.

A l'heure actuelle, le miel possède trois propriétés reconnues :

- Anti-microbienne
- Cicatrisante
- Anti-inflammatoire

Cela conduit à des indications thérapeutiques prouvées par de nombreuses études cliniques à travers le monde dans la cicatrisation quelle qu'en soit l'origine: plaies post opératoires, brûlures, ulcères ou encore escarres, etc. (46).

Une étude sur les propriétés thérapeutiques des composés bioactifs du miel d'abeille a permis de dresser un bilan sur leurs effets biologiques (43).

On retrouve des propriétés :

- Anti-oxydante
- Antimicrobienne
- Antiparasitaire
- Anti-inflammatoire
- Cicatrisante

Dans cette partie j'ai choisi de décrire les trois propriétés thérapeutiques reconnues dans le domaine scientifique.

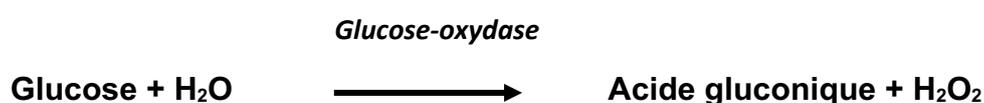
### 1. **Activité antimicrobienne**

Le miel inhibe la croissance des micro-organismes et des champignons. Cet effet a été l'un des principaux attraits de l'application du miel en médecine. Le développement et la commercialisation d'un miel de qualité médicale : le miel de Manuka irradié par rayons  $\gamma$  est spécifiquement utilisé en thérapeutique sur des plaies. Pour ce miel, une échelle d'activité antibactérienne a été définie, connue sous le nom de facteur unique de Manuka (UMF), représentant des équivalents d'une solution de phénol produisant une certaine inhibition dans un essai de diffusion radiale sur *Staphylococcus aureus* (47).

Le rôle des facteurs antibactériens spécifiques du miel a été étudié par neutralisation séquentielle, montrant que les mécanismes d'action sont complexes et variables selon le type de miel.

Le miel présente une activité bactéricide démontrée in vivo et in vitro par de nombreux auteurs et dont le principe actif est l'*inhibine* identifié par J. W. White en 1962 comme étant de l'eau oxygénée (48). L'eau oxygénée ou peroxyde d'hydrogène ( $H_2O_2$ ), est produite sous l'action d'une enzyme : la glucose-oxydase (GOX), sécrétée par les glandes hyopharyngiennes de l'abeille lors de la transformation du nectar en miel. La libération de peroxyde d'hydrogène est progressive, la concentration est de 4 à 5  $\mu g/g$  de miel à partir de la 12<sup>ième</sup> heure et jusqu'à 25  $\mu g/g$  à partir de la 24<sup>ième</sup> heure. Cette concentration physiologique permet de stimuler les fibroblastes des cellules pour débiter l'étape de la granulation .

La réaction d'oxydation est la suivante : (voie peroxydique)



Cependant, les mesures de la concentration minimale inhibitrice (CMI) et de la dégradation de l'ADN d'*Escherichia coli* et de *Bacillus subtilis* ont montré que les concentrations de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> dans le miel ne rendaient pas pleinement compte de l'inhibition de la croissance bactérienne, ce qui suggère que d'autres composants du miel devraient être impliqués (49).

En effet, plusieurs autres facteurs phyto-chimiques dits « non-peroxydés » sont responsables de l'activité antibactérienne du miel. Le méthylglyoxal (MGO) contenu dans le miel de Manuka et la défensine-1 sont deux facteurs antibactériens majeurs.

Le méthylglyoxal est une substance à pouvoir bactéricide mise en évidence dans le miel de Manuka par le Professeur Thomas Henlé en 2008 à l'université de Dresde (Allemagne). Ce miel provient du nectar du *Leptospermum scoparium*, le myrte de Nouvelle-Zélande plus connu sous le nom d'Arbre à thé. C'est un petit arbuste de 3 à 5 mètres de hauteur qui appartient à la famille des myrtacées et qui pousse dans le sud-est de l'Australie et en Nouvelle-Zélande.

Dans ce miel, des quantités élevées de MGO sont formées à partir de di-hydroxy-acétone présentent dans le nectar de Manuka grâce à un processus non enzymatique se produisant pendant le stockage du miel.

La teneur très élevée en MGO (jusqu'à environ 1 500 mg / kg) permet à ce miel de tuer diverses souches bactériennes, y compris *S. aureus* résistant à la Méthicilline (50).

Cependant, d'autres composés non identifiés sont susceptibles de contribuer à cette activité antibactérienne. Il a été démontré que la neutralisation du MGO affecte l'activité du miel contre *S. aureus* et *B. subtilis*, mais pas contre *E. coli* et *Pseudomonas aeruginosa* (51).

La défensine-1 a été détecté dans le miel de Revamil (miel médical) en novembre 2009, par le département de microbiologie médicale (Docteur Zaat) du Centre médical universitaire d'Amsterdam. Elle est présente dans tous les miels à très faible dose (de l'ordre de 2 à 3 ng/g de miel).

Ce peptide immuno-actif, considéré comme antibiotique - peptidique, est sécrété par la glande hyopharyngienne de l'abeille, on le retrouve dans le miel. Elle est semblable aux β-défensines-1 humaine qui jouent le rôle d'antimicrobien par agrégation et destruction de la cellule hôte (52).

La défensine-1 contenue dans le miel est responsable de l'activité antibactérienne contre les bactéries à Gram positif tel que *Bacillus spp.* À l'inverse, la défensine-1 n'est pas efficace contre *S. aureus* si elle est utilisée seule, mais est essentielle pour l'activité du miel contre cette espèce bactérienne, ce qui suggère une interaction synergique avec d'autres composants du miel. D'autres preuves d'interactions synergiques ont été détectées dans l'effet

du miel Revamil sur *E. coli* et *P. aeruginosa*, nécessitant à la fois H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> et MGO, et sur *Enterococcus faecium* résistant à la Vancomycine, nécessitant H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> en association avec MGO ou la défensine-1 (53).

Une étude a été consacrée à la comparaison des mécanismes d'action antibactériens du miel de Manuka et du miel de Revamil. Elle montre que la défensine-1 et le peroxyde d'hydrogène sont des facteurs antibactériens majeurs du miel de Revamil. Inversement, dans le miel de Manuka il a été constaté que l'activité antibactérienne dépendait de MGO et d'autres facteurs non identifiés (51).

L'absence de défensine-1 dans le miel de Manuka serait due à une inactivation du peptide provoquée par des modifications induites par le MGO (54).

Les autres facteurs antibactériens isolés du miel sont les glycoprotéines à N-glycanes à haute teneur en mannose. Ces protéines ont montré une activité agglutinante et bactéricide sur différents isolats cliniques de souches multi-résistantes (55).

## **2. Activité anti-inflammatoire**

Les flavonoïdes, molécules appartenant aux groupes des polyphénols, sont reconnues pour leur activité anti radicalaires de type 1 (neutralisant les radicaux hydroxyles).

Le miel stimule les cellules immunitaire résidant dans les tissus (macrophages, cellules dendritiques, mastocytes) qui libèrent des médiateurs de l'inflammation dont les cytokines pro-inflammatoires (IL-1 $\beta$ , IL-6, TNF- $\alpha$ ) qui vont permettre de recruter les cellules de l'immunité circulante : les lymphocytes T et B (56).

Ceci lui permet d'activer la réponse immune de l'organisme face à une infection et d'initier le processus de réparation tissulaire (52) (57).

## **3. Activité Cicatrisante**

La cicatrisation d'une plaie est un phénomène biologique naturel qui se déroule en 3 phases:

- **La phase exsudative** pour la détersion,
- **La phase proliférative** avec le développement du tissu de granulation,
- **La phase de différenciation** avec maturation cellulaire, développement de la cicatrice et épithélialisation.

Le peroxyde d'hydrogène formé a un rôle très important dans la phase exsudative, il crée une « micro effervescence » et un nettoyage mécanique de la plaie.

Il permet la stimulation ainsi que la croissance des fibroblastes et des cellules épithéliales qui vont participer à la réparation tissulaire ainsi qu'au développement de la néovascularisation dans le tissu cicatriciel. Le miel induit également la synthèse de collagène et active une cytokine : le TGF-  $\beta$ 1 (Transforming Growth Factor-  $\beta$ 1) qui a un pouvoir réparateur (58).

De plus, grâce à ses propriétés hygroscopiques l'application de miel sur la plaie génère un milieu humide favorable à l'ensemble des processus de cicatrisation. Ce milieu humide permet notamment une cicatrisation plus rapide.

L'effet osmotique permet de drainer le plasma et la lymphe et entraîne donc une diminution de l'œdème au sein de la plaie.

A l'heure actuelle le miel est très utilisé en thérapeutique. Le professeur Bernard Descottes, chef de service de chirurgie viscérale du CHU Dupuytren de Limoges a expérimenté la fonction antibactérienne et cicatrisante du miel. Cette expérimentation a duré 25 ans (1984-2009). Le but de son expérimentation était de mettre en lumière le rôle cicatrisant et antibactérien du miel sur les plaies infectées ou non. Le miel est largement utilisé pour la cicatrisation de plaies post-opératoires, d'escarres, de graves plaies infectées.

## PARTIE III : LES NEONICOTINOÏDES

---

### I. GENERALITES

Parmi les produits phytosanitaires il y a 3 types de pesticides :

- Herbicide
- Fongicide
- Insecticide

Les néonicotinoïdes sont des insecticides ayant une structure similaire à celle de la nicotine. Ils ont le même mode d'action que la nicotine et agissent sur le système nerveux central des insectes. Ce sont les insecticides les plus utilisés dans le monde, ils sont utilisés dans l'agriculture depuis leur mise sur le marché dans les années 1990.

Avec un chiffre d'affaires dépassant le milliard de dollars en 2005, ils sont devenus la classe d'insecticides la plus vendue dans le monde, avec une part de marché supérieure à 23% (59).

Ils sont utilisés dans 4 domaines :

- pour la protection des plantes de cultures et des plantes ornementales (contre les insectes nuisibles),
- pour le contrôle des parasites nuisibles (cafards, les fourmis, les termites) en milieu urbain,
- dans domaine vétérinaire contre les puces, les tiques,.. sur les animaux domestiques et le bétail,
- dans le domaine de la pisciculture

Ce sont les seuls insecticides possédant différents types d'application :

- traitement du sol par épandage de granulés ou trempage,
- traitement des parties aériennes des plantes par pulvérisation,
- enrobage de semence par injection dans les plants ou trempage.

Les applications en enrobage de semences et traitement du sol représentent environ 60% de l'utilisation (60).

Les différentes substances néonicotinoïdes actives ont été introduites progressivement sur le marché. Leur utilisation a fortement augmenté ces dernières années en raison des restrictions imposées aux autres insecticides et de leur utilité pour la gestion de la résistance. Ce sont des insecticides chimiques de synthèse. Ils sont actifs contre un large spectre de ravageurs de

cultures et ne possèdent pas de résistance connue. Ce qui a été considéré comme un avantage et devenu une problématique car ces pesticides conduisent à des effets indésirables sur des insectes non-cibles.

La majorité des néonicotinoïdes sont utilisés pour le traitement des semences prophylactique et ont une action systémique. C'est un traitement *a priori* contre les ravageurs cibles. Pendant la germination et la croissance, l'insecticide présent dans l'enrobage des semences est absorbé par les racines et transporté à tous les tissus de la plante cultivée (feuille, fleur, racine, tige, pollen et nectar) ce qui la rend toxique pour les insectes.

Les néonicotinoïdes offrent ainsi une protection prolongée du stade de semence au stade adulte de la plante. La dose toxique pour les insectes est très faible ce qui en fait un insecticide économiquement attractif pour les agriculteurs.

Les néonicotinoïdes se caractérisent par une faible biodégradabilité. Cela engendre une persistance dans le sol et une diffusion dans les nappes phréatiques qui finit par atteindre des populations d'êtres vivants qui n'étaient pas ciblées au départ.

Les néonicotinoïdes possèdent une grande affinité pour les récepteurs nicotiques de l'acétylcholine (nAChRs) des insectes qui se traduit par une atteinte du système nerveux de l'insecte engendrant une paralysie et la mort de ce dernier.

Actuellement, les néonicotinoïdes sont mis en cause dans la disparition des abeilles. A faible dose, les néonicotinoïdes altèreraient leur système nerveux centrale et les désorienteraient menant à leur disparition. Dans les prochains paragraphes je regroupe les connaissances scientifiques actuelles concernant ces pesticides néonicotinoïdes et leur possible effet sur les abeilles.

La famille des néonicotinoïdes regroupe 7 molécules :

- l'imidaclopride (1991)
- l'acétamipride (1995)
- le nitenpyrame (1995)
- le thiamétoxam (1998)
- le thiaclopride (2000)
- le clothianidine (2001)
- le dinotéfurane (2002)

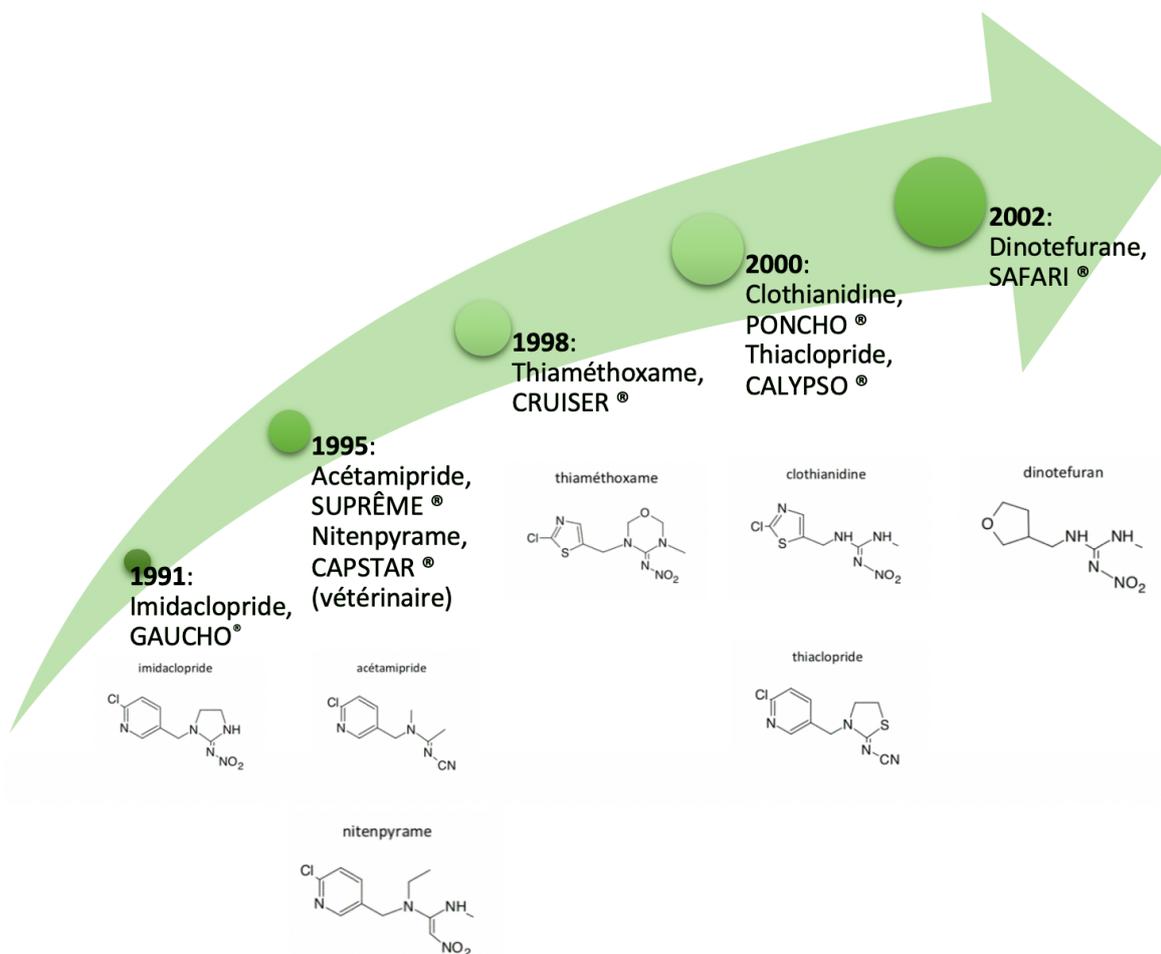


Figure 37 : Année de mise sur le marché des molécules néonicotinoïdes

Les réglementations relatives à ces substances ont évolué depuis leur mise sur le marché. En France, plusieurs législations limitent le recours à ces substances depuis le 1<sup>er</sup> septembre 2018. Le détail des réglementations liées à ces substances est développé dans une prochaine partie.

## II. LES CARACTERISTIQUES PHYSICO-CHIMIQUES

Les néonicotinoïdes ont des caractéristiques structurales proches de la nicotine, ce qui se traduit par une sélectivité accrue pour les nAChR des insectes (voir le schéma n°38 pour une comparaison des structures). En outre, l'atome d'azote aminé dans la nicotine est ionisé, tandis que dans les néonicotinoïdes, l'atome d'azote correspondant n'est pas ionisé.

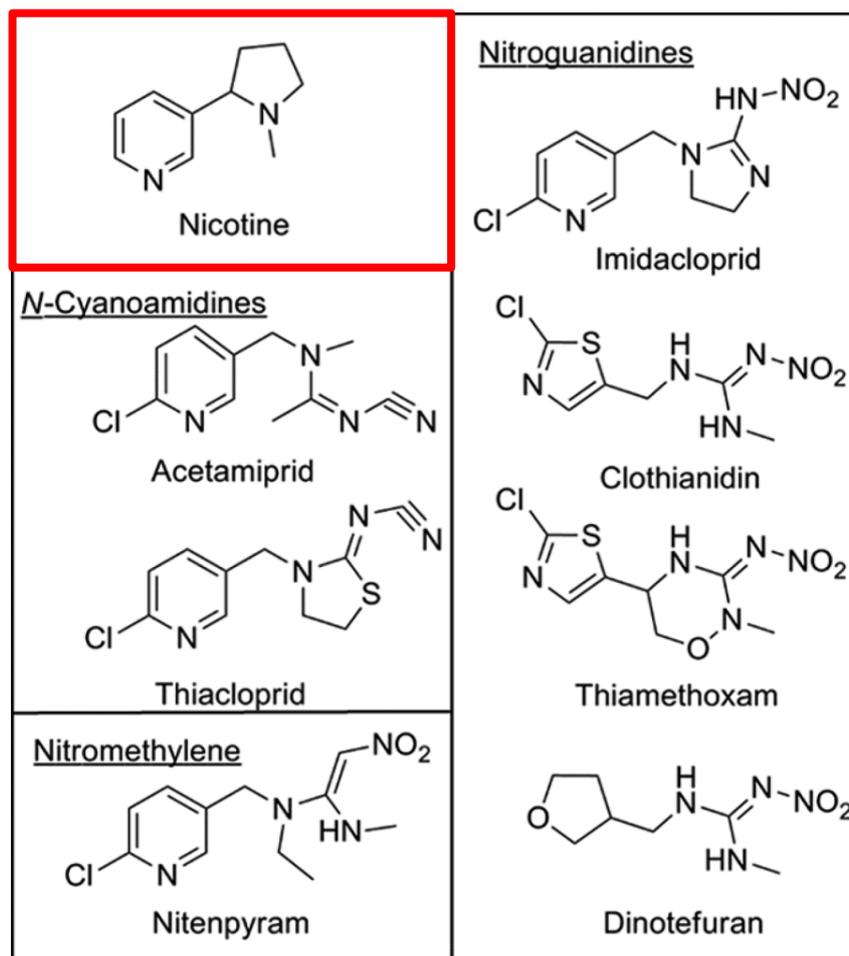


Figure 38 : Structures de la nicotine et des insecticides systémiques néonicotinoïdes (61)

### 1. L' Imidaclopride

L'imidaclopride appartient à la famille des chloronicotiniles. D'un point de vue chimique, il s'agit d'une chloro-nicotinyl-nitro-guanidine. En effet on note la présence d'un atome de chlore sur son cycle pyridine.

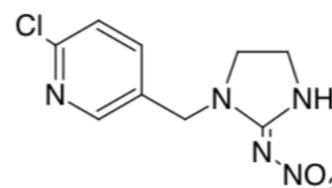
**Formule brute** :  $C_9 H_{10} Cl N_5 O_2$

**État** : solide

**Masse molaire** : 255,66

**Caractéristiques** : poudre cristalline de couleur blanchâtre d'odeur faible et caractéristique. C'est une substance non volatile très peu soluble dans l'eau (610 mg/L à 20°C) soluble dans la plupart des solvants tels que l'acétone et le dichlorométhane mais peu soluble dans les solvants aliphatiques tel que l'hexane.

imidaclopride



## Étiquette :



L'imidaclopride est un produit stable à température ambiante. En cas de feu, c'est un solide liquéfiable combustible, de dangereux produits de décomposition se forment tels que de l'azote, de l'oxyde de carbone, de l'acide chlorhydrique ou du cyanure d'hydrogène.

L'imidaclopride a été introduit sur le marché des produits phytosanitaires en 1991 par la société Bayer, il était utilisé sous la formulation GAUCHO® pour l'enrobage des semences et également en traitement des parties aériennes des plantes sous la formulation CONFIDOR®. Cette molécule a été interdite en 2013 et retirée du marché.

Il était majoritairement employé en agriculture et présent dans de nombreuses formulations tel que le GAUCHO® qui était utilisé par les céréaliers sous forme de poudre à pulvériser ou encore le CONFIDOR®, concentré soluble utilisé pour les arbres fruitiers contre les pucerons par exemple. A cette époque-là, c'est un des rares insecticides à être utilisé en enrobage des semences. De par ses propriétés systémiques, l'imidaclopride était diffusé dans toutes les parties de la plante.

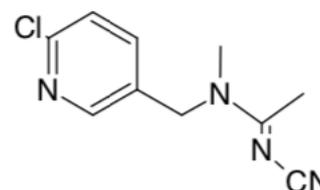
## 2. L'Acétamipride

**Formule brute** : C<sub>10</sub> H<sub>11</sub> Cl N<sub>4</sub>

**Masse molaire** : 222.68

**État** : solide

acétamipride



**Caractéristiques** : Peu soluble dans l'eau mais soluble dans les solvants. L'acétamipride se présente sous forme de poudre blanche incolore. C'est un organochloré. Il est utilisé pour lutter contre les insectes suceurs dans les cultures d'agrumes, ou dans la vigne par exemple. C'est aussi un pesticide très présent dans la culture des cerisiers en raison de son efficacité contre la larve de la mouche de la cerise.

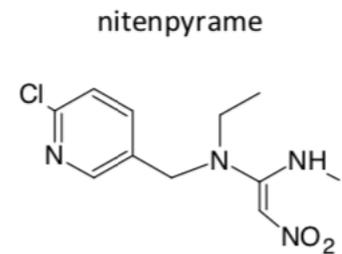
L'acétamipride a été commercialisé en 1995 sous la formulation SUPRÊME® pour le traitement des parties aériennes des plantes et il est essentiellement utilisé en culture fruitière pour lutter contre les pucerons.

### 3. Le Nitenpyrame, (1995)

**Formule brute:** C<sub>11</sub> H<sub>15</sub> Cl N<sub>4</sub> O<sub>2</sub>

**Masse moléculaire :** 270,72 g/mol

Le Nitenpyrame a été commercialisé en 1995 sous la formulation CAPSTAR. Il est utilisé pour le traitement des parties aériennes des plantes et également en usage vétérinaire contre les puces sous formes de comprimés oraux.



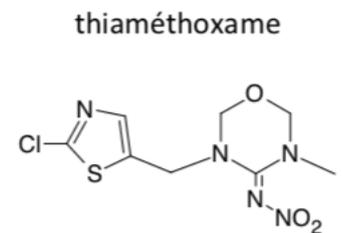
### 4. Le Thiaméthoxame (1998)

**Formule brute :** C<sub>8</sub> H<sub>10</sub> Cl N<sub>5</sub> O<sub>3</sub> S

**Poids moléculaire :** 291.7

**Caractéristiques :** se présente sous la forme d'une poudre cristalline.

C'est en 1998 qu'est apparu le thiaméthoxame sous la formulation CRUISER® pour l'enrobage des semences.



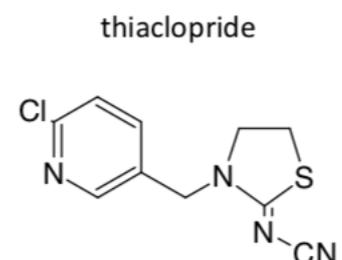
### 5. Le Thiaclopride (2000)

**Formule brute :** C<sub>10</sub> H<sub>9</sub> Cl N<sub>4</sub> S

**Poids moléculaire :** 252.73

**Caractéristiques :** se présente sous la forme d'un solide jaune qui est plus soluble dans l'eau que les solvants.

En 2000, le thiaclopride est commercialisé sous la formulation CALYPSO®, il est employé en application foliaire et en traitement du sol sous la formulation EXEMPTOR® pour lutter contre divers aphides et coléoptères.



## 6. La Clothianidine (2001)

→ Métabolite du thiaméthoxame

**Formule brute** : C<sub>6</sub> H<sub>8</sub> Cl N<sub>5</sub> O<sub>2</sub> S

**Poids moléculaire** : 249.7

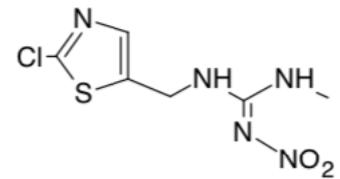
**Caractéristiques** : se présente sous la forme d'une poudre jaune, inodore.

C'est en 2001 que la clothianidine a fait son entrée sur le marché mondial des produits phytosanitaires pour l'enrobage des semences sous la formulation PONCHO®.

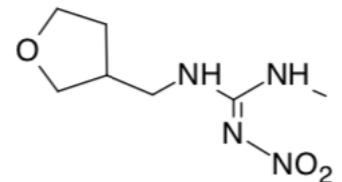
## 7. Le Dinotéfurane, (2002)

C'est en 2002 que le dinotéfurane est apparu sur le marché sous la formulation SAFARI®, il est utilisé pour protéger les plantes d'ornementation contre les pucerons.

clothianidine



dinotefuran



Name	Abbreviation	Molecular weight	Water solubility (g/L)	<sup>b</sup> Log P <sub>ow</sub>	nAChR IC <sub>50</sub> (nM)			LD <sub>50</sub> (mg/kg or ppm)			
					Pest	Mammals	Selectivity ratio	Honey bee <sup>c</sup>	Mammal	Bird	Fish
<b>Neonics</b>											
Imidacloprid	IMI	255.7	0.61	0.57	4.3	2,600	605	18	450	31	211
Clothianidin	CLO	249.7	0.33	0.7	2.2	3,500	1,591	3.8	>5,000	>2,000	>100
Thimethoxam	TMX	291.7	4.10	-0.13	5,000	>100,000	>20	5	1,563	1,552	>100
Dinotefuran	DIN	202.2	54.3	-0.64	900	>100,000	>111	23	2,400	>2,000	>100
Nitenpyram	NIT	270.7	840	-0.64	14	49,000	3,500	140	1,628	>2,250	>1,000
Thiacloprid	THIA	252.7	0.185	1.26	2.7	860	319	39,000	640	49	31
Acetamiprid	ACET	222.7	4.20	0.80	8.3	700	84	8,100	182	180	>100
<b>Nicotinoids</b>											
(-)-Nicotine	NIC	162.2	1,000	0.93	4,000	7	0.002	toxic	50-60	toxic	4

**LD<sub>50</sub>** : La dose létale (DL<sub>50</sub>) médiane est un indicateur quantitatif de la toxicité d'une substance.

**IC<sub>50</sub>** : concentration inhibitrice médiane (CI<sub>50</sub>) est une mesure de l'efficacité d'un composé donné pour inhiber une fonction biologique ou biochimique spécifique.

C : Microgramme par abeille (administration orale)

Honey bee : abeille

Mammal : mammifère

Bird : oiseau

Fish : poisson

Figure 39 : Tableau récapitulatif des propriétés physiques et du profil toxicologique des néonicotinoïdes

### III. LE MECANISME D'ACTION DE NEONICOTINOÏDES

L'acétylcholine est un neurotransmetteur excitateur qui joue un rôle important dans le système nerveux central des invertébrés. Ce sont les neurones cholinergiques qui libèrent ce neurotransmetteur au niveau des synapses. Elle est synthétisée à partir de la choline et de l'acétylcoenzyme A.

Plusieurs types de récepteurs à l'acétylcholine ont été identifiés :

- **Les récepteurs nicotiques** (récepteurs ionotropes) perméables aux ions Na<sup>+</sup> ainsi qu'aux ions K<sup>+</sup> et sensibles à l'acétylcholine. Ce sont des récepteurs canaux. Ils sont constitués de 5 sous-unités composées principalement de deux domaines: un domaine extracellulaire et un domaine membranaire.

Le domaine extracellulaire forme le site de fixation des ligands. Le domaine membranaire forme un canal permettant le passage à travers la membrane des ions sodium, potassium ou calcium.

L'agoniste exogène de l'acétylcholine est la nicotine qui donne son nom au récepteur.

- **Les récepteurs muscariniques** (récepteurs métabotropes) couplés à la protéine G. Ils présentent 5 sous-types: M1, M2, M3, M4 et M5. La liaison avec l'acétylcholine entraîne soit une inhibition de l'adénylate cyclase (ce qui diminue la concentration intracellulaire en AMP cyclique) soit une activation de la phospholipase C (PLC) (ce qui provoque une augmentation de la concentration intracellulaire de diacylglycérol (DAG) et d'inositol triphosphate (IP3)).

Dans cette partie je développerai seulement les récepteurs nicotiques. En effet, ce sont ces récepteurs qui sont la cible des néonicotinoïdes.

### 1. Les récepteurs à l'acétylcholine de type nicotique

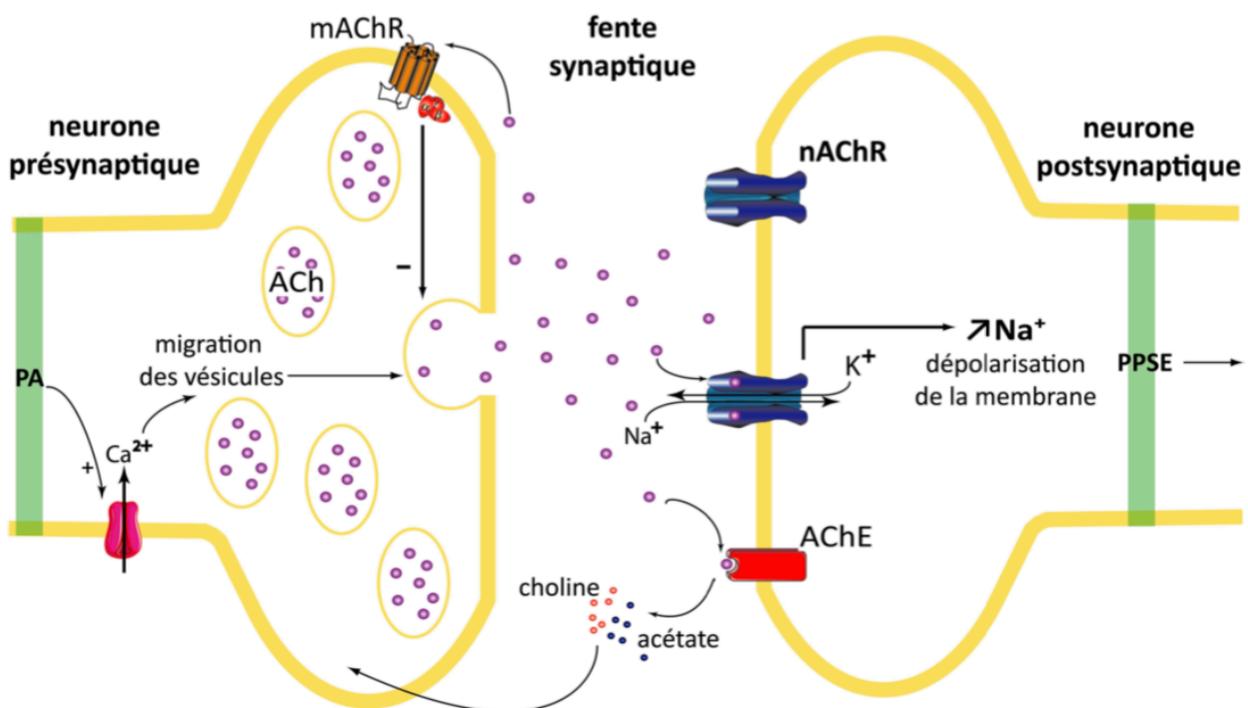


Figure 40 : Représentation schématique d'une synapse cholinergique (62)

Le récepteur nicotinique à l'acétylcholine (nAChRs) possède une double fonction, en effet il joue un rôle de récepteur à l'acétylcholine mais c'est aussi un canal cationique ( $\text{Ca}^{2+}$ ,  $\text{K}^+$ ,  $\text{Na}^+$ ). La propagation d'un potentiel d'action (PA) au niveau du bouton synaptique engendre l'activation de canaux calciques voltage-dépendant et la migration de vésicules d'acétylcholine (ACh) vers la fente synaptique. La libération de l'ACh par le neurone pré-synaptique active les récepteurs à l'acétylcholine de type nicotinique (nAChRs) post-synaptiques ce qui entraîne un flux sortant d'ions  $\text{K}^+$  et un flux entrant d'ions  $\text{Na}^+$ . Cette entrée d'ions sodium crée une dépolarisation de la membrane et génère ainsi un potentiel post-synaptique excitateur (PPSE) transmettant l'information nerveuse au neurone post synaptique.

## **2. Structure des récepteur nicotinique à l' acétylcholine des insectes**

C'est un récepteur pentamérique composé de cinq sous-unités transmembranaires assemblées formant un canal ionique.

Chaque sous-unité fait 50 kDa et est composée :

- D'une partie N terminale extracellulaire (cys-loop)
- 4 domaines transmembranaires (M1 à M4), M2 participe à la formation du pore du canal.
- Une boucle intracellulaire entre les domaines M3 et M4
- Une terminaison COOH terminale extracellulaire.

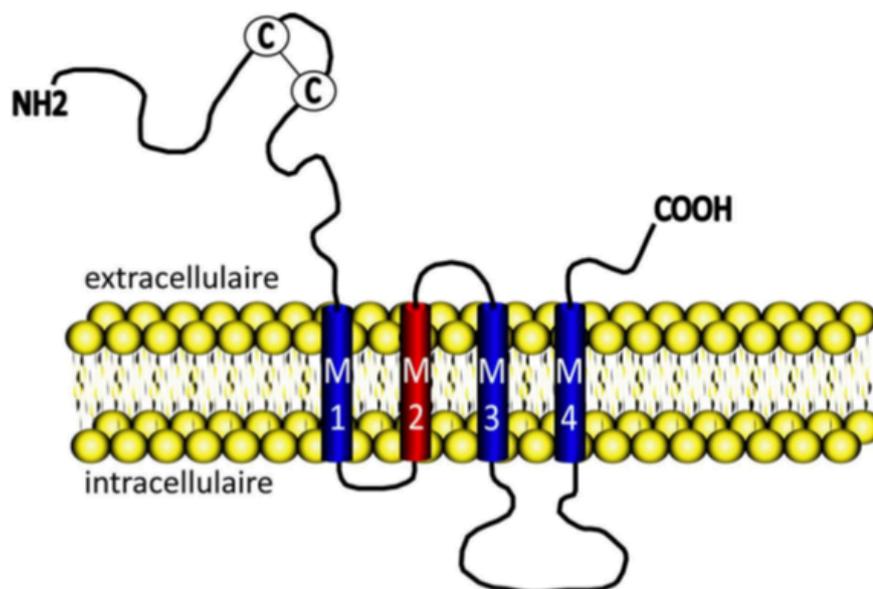


Figure 41 : Structure d'une sous-unité de nAChRs (63)

On distingue deux types de sous-unités :

- **Les sous-unités  $\alpha$**  qui comportent deux cystéines adjacentes au niveau N-terminal qui sont impliquées dans le site de liaison à l'ACh.
- **Les sous-unités  $\beta$**  qui ne possèdent pas de cystéines au niveau N-terminal

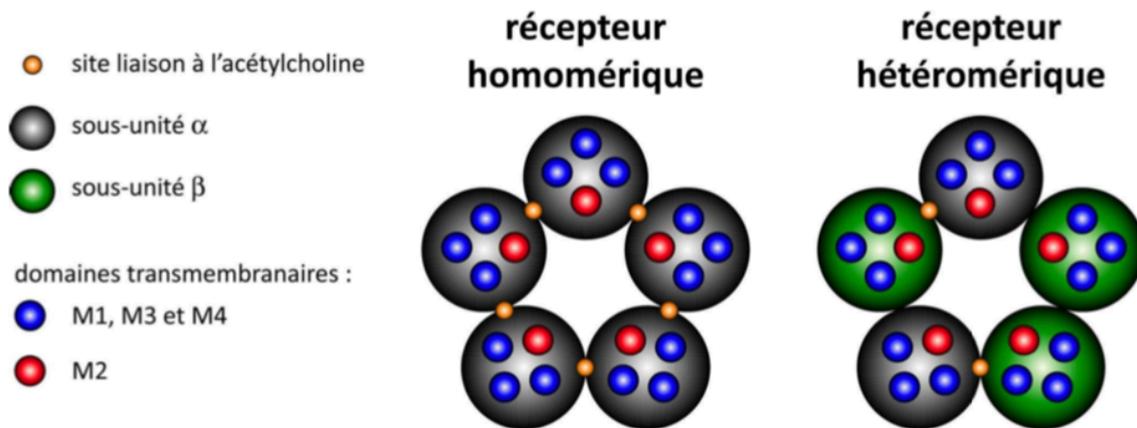


Figure 42 : Assemblage des sous-unités de nAChRs (63)

### 3. Les récepteurs nicotiques à l'acétylcholine, cible des néonicotinoïdes

Les récepteurs nicotiques à l'acétylcholine sont la cible des néonicotinoïdes.

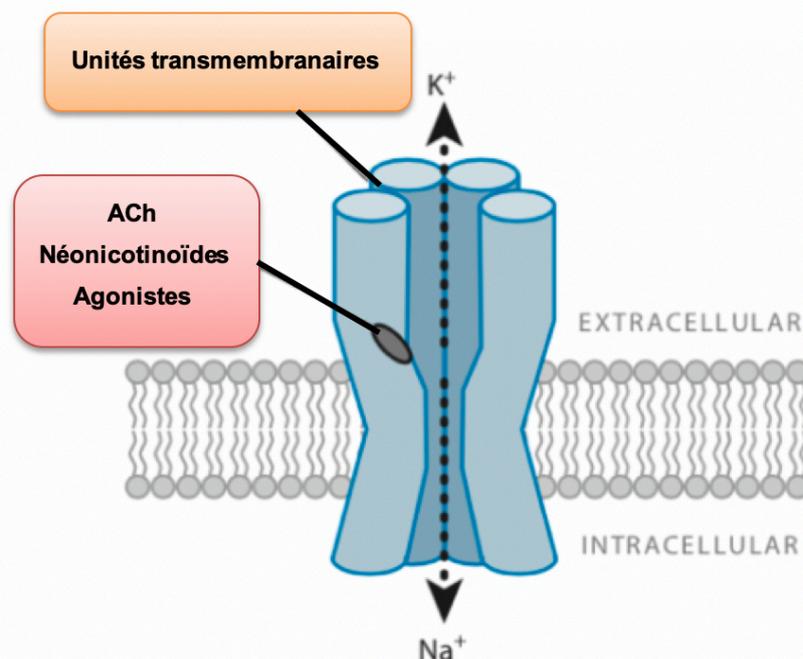


Figure 43 : Récepteur nicotinique de l'acétylcholine (nAChR) cible des néonicotinoïdes.

Les néonicotinoïdes sont considérés comme des substances agonistes des récepteurs nicotiques à l'acétylcholine. Ils vont ouvrir les canaux cationiques ( $\text{Na}^+$  et  $\text{K}^+$ ) et activer les canaux calciques voltage-dépendants.

Cette action agoniste est illustrée par une expérience réalisée en Californie en 2013 *in vivo* et *in vitro* avec des mouches domestiques (*Musca domestica*) (64).

L'objectif de l'expérience était de mesurer l'inhibition du récepteur nicotique à l'acétylcholine dans le cerveau des mouches domestiques en administrant du nitrométhylène-imidaclopride (analogue de l'imidaclopride) marqué au tritium ou du  $[3\text{H}]$  CH-NMI, en tant que radioligand. Cela a permis d'examiner les interactions nAChR – insecticide *in vitro* et *in vivo* et de mettre en lumière la corrélation entre l'inhibition *in vivo* du nAChR et les signes d'empoisonnement.

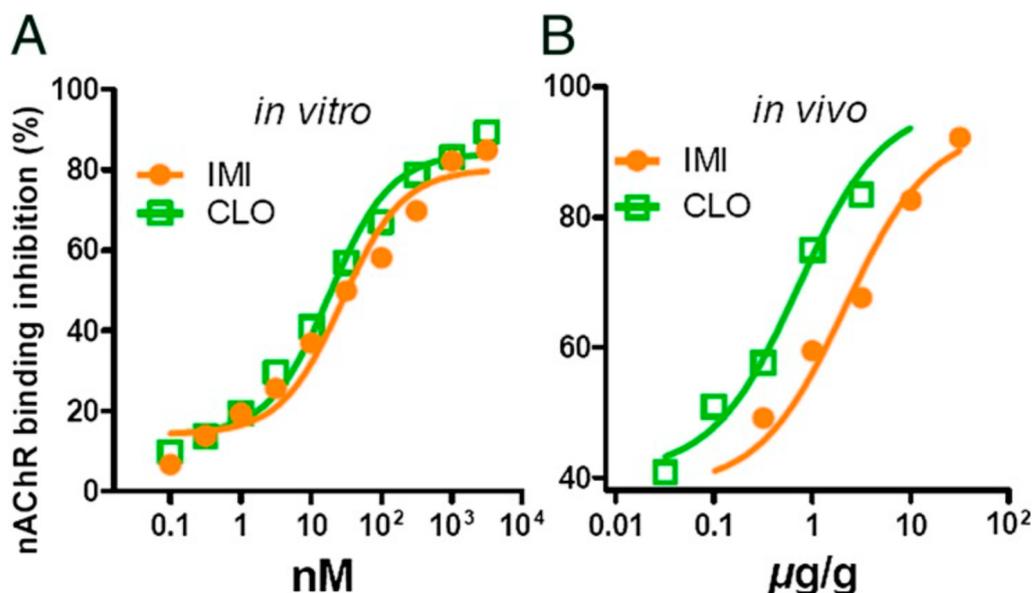
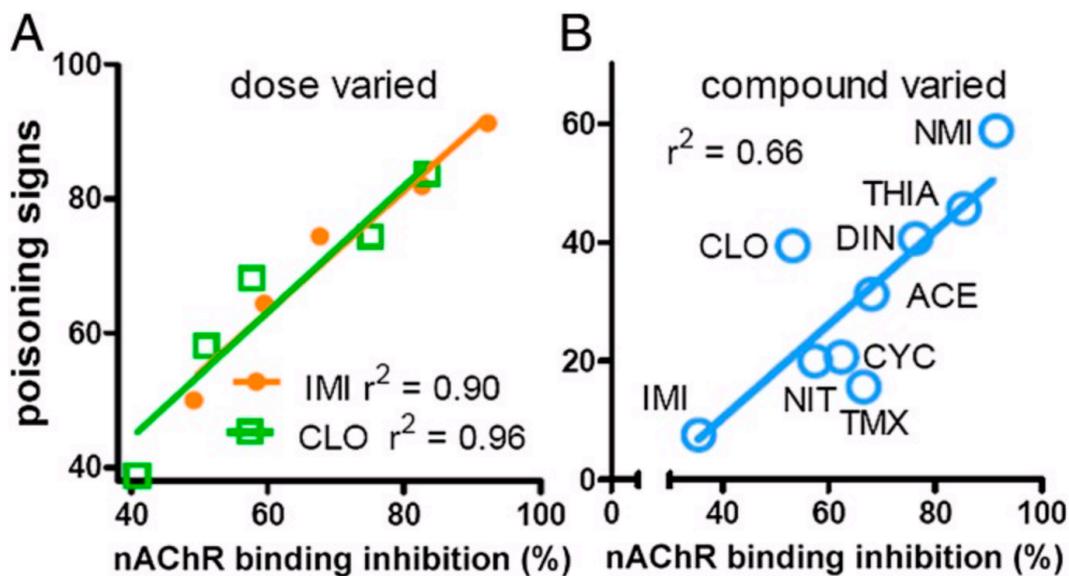


Figure 44 : Les néonicotinoïdes imidaclopride et clothianidine inhibent la liaison au récepteur nicotinique à l'acétylcholine de la  $[3\text{H}]$  NMI *in vitro* en fonction de la concentration (A) et *in vivo* en fonction de la dose (B) (64)

Cela est valable non seulement pour différentes doses d'imidaclopride et de clothianidine injectées (voir figure n°44) mais aussi pour une série de néonicotinoïdes injectés (organophosphatés et méthylcarbamate) (voir figure n°45) agissant directement au niveau du nAChR.



**Légende :** [3H] CH-IMI, nitrométhylène-imidaclopride marqué au tritium; ACE, acétamipride; ACh, acétylcholine; CYC, cycloxapride; DIN, dinotéfurane; NIT, nitenpyram; THIA, thiaclopride; TMX, thiaméthoxame, IMI, imidaclopride, CLO, clothianidine.

Figure 45 : Relation entre l'inhibition par les néonicotinoïdes de la liaison in vivo de nAChR [3H] NMI et les signes d'empoisonnement pour différentes doses d'imidaclopride et de clothianidine (A) et pour divers néonicotinoïdes injectées à 0,2 µg / g (B) (64)

La pertinence toxicologique des interactions nAChR – néonicotinoïde a été testée en déterminant les relations dose-réponse et structure-activité de l'inhibition de la liaison au nAChR par rapport aux signes d'empoisonnement (65).

Les résultats relatifs à la relation dose-réponse ont établi que l'inhibition de la liaison au nAChR est étroitement liée aux signes d'empoisonnement, ce pour les neuf substances testées.

Ceci explique que l'ouverture du canal des nAChRs induite par la liaison des néonicotinoïdes aux récepteurs conduit à une excitation continue des membranes neuronales menant à la paralysie et la mort (60).

D'autre part, les différences entre les nAChRs des invertébrés et des vertébrés expliquent en partie la forte sélectivité des néonicotinoïdes chez les invertébrés et la toxicité relativement faible chez les vertébrés. Cela est dû notamment à une plus faible quantité de récepteurs nicotiques ayant une haute affinité pour les néonicotinoïdes chez les vertébrés (66).

De plus, les abeilles mellifères sont sensibles à de nombreuses substances toxiques, en partie à cause de leurs faibles taux d'enzymes de détoxification. La régulation à la hausse ou la réduction des CYP pourraient également jouer un rôle (64).

#### **IV. LEGISLATION DES NEONICOTINOÏDES**

C'est en 1990 qu'a débuté la commercialisation des néonicotinoïdes pour les cultures céréalières, des légumes et des fruits. Cette classe de pesticide a connu un développement très rapide.

Le premier néonicotinoïde (imidaclopride) a été découvert en 1985 par Shinzo Kagabu pour Bayer CropScience, au Japon et mis sur le marché en 1991.

La première interdiction d'une des molécules faisant partie de la famille des néonicotinoïdes date de 1999 en France. Elle concerne l'imidaclopride sur le tournesol. La seconde interdiction fut en 2004 pour l'imidaclopride sur le maïs.

D'un point de vue législatif, l'autorisation d'utilisation des produits phytosanitaires est propre à chaque plante cultivée.

En 2013, l'utilisation et la vente de semences traitées avec des produits phytopharmaceutiques contenant l'imidaclopride, le thiaméthoxame et la clothianidine sont interdits au niveau européen. Cette interdiction s'applique au traitement des semences et traitement des sols dans les cultures qui attirent les abeilles, exception faite aux cultures sous serre, aux semences de céréales d'hiver et aux utilisations après la floraison (voir annexe n°1). Cette loi est entrée en vigueur le 1<sup>er</sup> décembre 2013 (67).

En 2016, la loi pour la reconquête de la biodiversité de la nature et des paysages prévoit que l'utilisation de produits phytopharmaceutiques contenant une ou des substances actives de la famille des néonicotinoïdes et de semences traitées avec ces produits soit interdite dès le 1<sup>er</sup> septembre 2018 (voir annexe n°2 et 3). Des dérogations pourraient être accordées jusqu'au 1<sup>er</sup> juillet 2020 au cas par cas après analyse des bénéfices/ risques et des alternatives possibles (68).

Cet arrêté est pris sur la base d'un bilan établi par l'Agence nationale de sécurité sanitaire de l'alimentation, de l'environnement et du travail (ANSES) qui compare les bénéfices/ risques liés aux usages des produits phytopharmaceutiques contenant des substances actives de la famille des néonicotinoïdes autorisés en France avec ceux liés aux usages de produits de substitution ou aux méthodes alternatives disponibles.

En 2018, L'EFSA a dressé un nouveau rapport sur les néonicotinoïdes, plusieurs problématiques ont été étudiées. Sur quelle base l'EFSA a conclu que les risques des néonicotinoïdes sur les abeilles étaient confirmés (69) ?

L'EFSA a comparé les niveaux de pesticides NNC auxquels les abeilles sont exposées dans l'environnement à ceux causant des effets sur les abeilles. Chaque fois que l'estimation de la contamination de l'environnement était supérieure aux niveaux considérés comme sûrs pour les abeilles, un risque élevé a été conclu. Pour toutes les utilisations de ces substances en extérieur, au moins un aspect de l'évaluation indiquait un risque élevé, ce qui a permis de conclure que, dans l'ensemble, ces néonicotinoïdes représentent un risque pour les abeilles.

Dans la plupart des cas où des risques faibles ont été identifiés pour une voie d'exposition, des risques élevés ont également été identifiés pour une autre voie et une autre espèce de pollinisateurs.

Néonicotinoïde	Type d'abeille	Plante	Voie d'exposition	Risque
Imidaclopride	Abeilles mellifères	Colza (hiver et printemps)	Résidus dans le nectar et le pollen de cultures traitées	Faible
			Résidus dus à la poussière	Haut
	Bourdons		Résidus dans le nectar et le pollen de cultures traitées	Haut

Tableau 2 : Risque de l'imidaclopride sur les pollinisateurs en fonction de la voie d'exposition (69)

Les conclusions sur les risques varient en fonction des facteurs tels que l'espèce d'abeille, le type d'utilisation du pesticide et la voie d'exposition (résidus dans le pollen et le nectar d'abeille, résidus de poussière pendant le semis et la plantation des semences traitées, résidus dans l'eau).

Les abeilles peuvent être exposées aux néonicotinoïdes de plusieurs façons, en fonction de l'utilisation du pesticide. Les évaluations ont indiqué que dans de nombreux cas, les abeilles qui butinent dans un champ traité par des pesticides de type néonicotinoïde ainsi que dans ses environs risquent d'être exposées à des concentrations nocives de pesticides.

A cause de l'action systémique de ses pesticides, le pollen et le nectar de la culture traitée contiennent des résidus de pesticides et les plantes à proximité peuvent également être contaminées par la poussière qui s'éloigne du champ. De plus, le sol où la culture est plantée peut être contaminé par le pesticide. Dans certaines situations, le pesticide peut persister et s'accumuler dans le sol.

Les informations sur ce phénomène sont encore limitées, mais l'EFSA a conclu que, dans certains cas, les abeilles pourraient toujours être exposées à des niveaux nocifs de pesticides néonicotinoïdes par cette voie. Parallèlement, la Commission Européenne a soumis la proposition d'interdire tous les usages des néonicotinoïdes, exception faite des cultures sous serre. Elle justifie sa proposition par les risques élevés pour les abeilles, notamment du fait des différentes voies d'exposition des pollinisateurs aux néonicotinoïdes. Ils peuvent y être confrontés par voie orale en ingérant le pollen, le nectar et le miel après sa fabrication. Cette contamination peut se faire par le biais des fleurs des cultures traitées ou de celles des terrains environnants du fait de la diffusion des néonicotinoïdes dans le sol. Ils sont atteints par contact direct lorsque les néonicotinoïdes sont pulvérisés ou par les rejets de poussière lors du semis de graines enrobées. Cette proposition soumise au vote le 27 avril 2018, a été acceptée par la majorité des États de l'Union Européenne. L'utilisation est donc désormais restreinte au seul usage sous serre permanente ou au traitement de semences destinées à être utilisées sous une serre permanente (69).

## **V. ÉTUDES SUR LES NEONICOTINOIDES**

### **1. Une enquête « mondiale » sur les néonicotinoïdes dans le miel**

Rapidement après leur commercialisation, les pesticides néonicotinoïdes ont été soupçonnés d'être un facteur clé responsable du déclin des pollinisateurs. En raison de leur toxicité intrinsèque élevée pour les abeilles mellifères, les organismes de réglementation du monde entier ont étudié les risques associés à une exposition aux insecticides néonicotinoïdes.

Les abeilles butinent le nectar et le pollen des fleurs situés à moins de 4 km de la ruche en moyenne et peuvent parcourir jusqu'à 12,5 km (nomadisme de ruche à ruche). Ainsi, d'une part, le niveau résiduel de pesticides dans le miel est vu comme un moyen potentiel de mesurer la contamination dans le paysage environnant. D'autre part, il est important de surveiller la présence de résidus dans le nectar, le pollen et surtout le miel qui est le produit apicole le plus consommé.

Plusieurs études de surveillance et/ou enquêtes de terrain ont été réalisées à travers le monde. Une étude récente a permis d'évaluer l'exposition globale des pollinisateurs aux

néonicotinoïdes en analysant des échantillons de miel provenant du monde entier (70). Dans cette étude, cinq molécules ont été recherchées : l'acétamipride, la clothianidine, l'imidaclopride, le thiaméthoxame et le thiaclopride. Les résultats des analyses peuvent être résumés ainsi :

- 75% des échantillons contenaient au moins un des cinq composés testés.
- 45% des échantillons contenaient deux ou plus de ces composés.
- 10% des échantillons contenaient quatre ou cinq composés testés.

Ces résultats confirmaient donc l'exposition des abeilles aux néonicotinoïdes, avec quelques disparités en fonction des régions du globe : les échantillons prélevés en Amérique du nord (86%), en Asie (80%) et en Europe (79%) révélant les taux de contaminations multiples les plus importants.

La figure ci-dessous illustre la nature des composés détectés ainsi que leur concentration dans le miel, dans les différentes parties du globe.

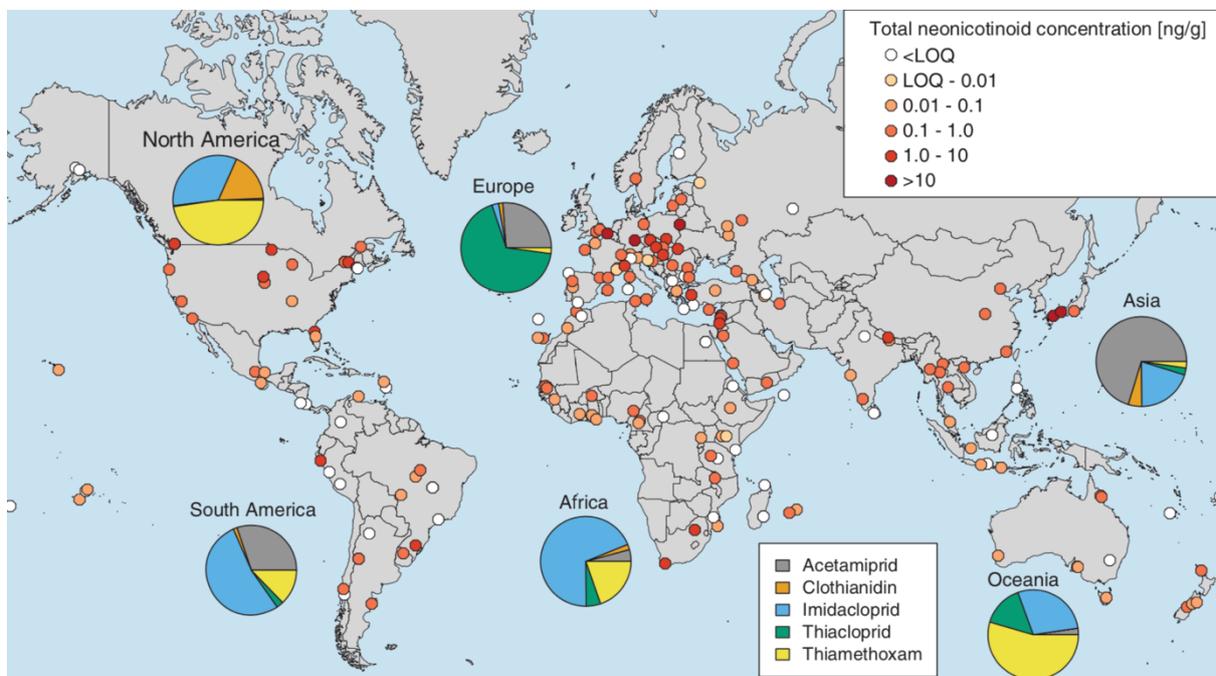


Figure 46 : Distribution mondiale de la contamination du miel par les néonicotinoïdes

*Diagrammes: Proportion relative de la concentration globale de chaque néonicotinoïde par continent ; (LOQ : limite de quantification de la méthode) (70)*

La fréquence d'apparition des néonicotinoïdes dans les échantillons dépendaient de la région du globe :

- **L'imidaclopride** est le composé majoritairement retrouvé dans les échantillons en Afrique et en Amérique du sud.
- **Le thiaclopride** est le composé majoritairement retrouvé en Europe.
- **L'acétamipride** est le composé majoritairement retrouvé en Asie.

- **Le thiaméthoxame** est le composé majoritairement retrouvé en Océanie et en Amérique du nord.
- **La clothianidine** est globalement le moins retrouvé dans les échantillons de miel.

La figure ci-dessous rapporte la distribution des concentrations mesurées dans les différents échantillons.

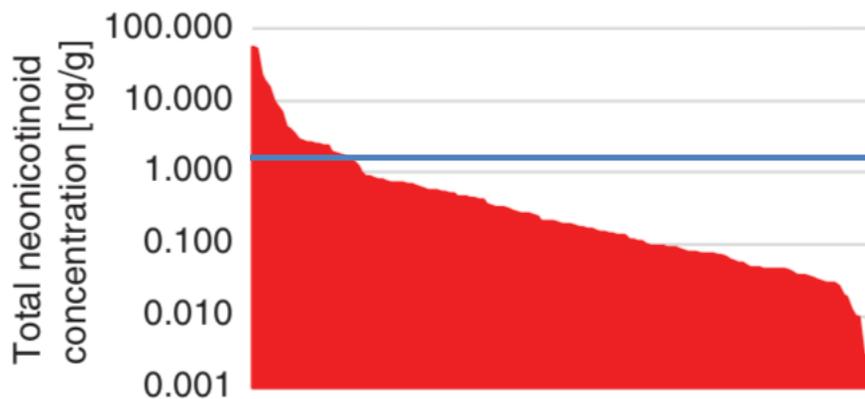


Figure 47 : Distribution des concentrations de néonicotinoïdes totaux dans les 149 échantillons dans lesquels des concentrations quantifiables de néonicotinoïdes ont été mesurées (68)

La concentration maximale pour les échantillons positifs était de 56 ng/g et on peut raisonnablement retenir qu'environ la moitié des échantillons présentaient une concentration supérieure à 0,5 ng/g.

Ces valeurs peuvent être interprétées, dans un premier temps, au vu des limites maximales de résidus (LMR) autorisées dans l'Union Européenne pour les produits destinés à l'alimentation humaine et animale sont les suivantes. Les LMR sont les suivantes :

- 50 ng/g pour l'acétamipride, l'imidaclopride et le thiaclopride
- 10 ng/g pour le thiaméthoxame et la clothianidine

D'après les résultats obtenus, aucun pesticide pris individuellement n'excéder sa LMR parmi les échantillons de miel analysés.

Ces valeurs doivent également être interprétées au vu des connaissances actuelles entre concentration en pesticides et toxicité chez l'abeille. D'après une étude britannique, une exposition à du miel contenant de l'imidaclopride à une concentration de 0,25 ng/g pendant 150 jours serait mortelle pour l'abeille (71). Des effets sublétaux sur les abeilles ont également observés pour des concentrations aussi faibles que 0,10 ng/g (72). Ces effets seraient des troubles de la croissance, des déficits immunitaires, des atteintes cognitives, des atteintes des fonctions respiratoires et reproductrices. Des troubles comportementaux divers apparaîtraient

également : perturbation des capacités de butinage et de « homing ». Ces effets seraient liés à une atteinte de la régulation des récepteurs nicotiques AChR  $\alpha 4\beta 2$  dans le SNC. Dans ce mécanisme, les métabolites seraient plus actifs que les molécules mères.

D'autre part, il est possible que les effets d'une exposition à de multiples pesticides soient plus puissants que la somme des effets individuels. On parle d'effets cocktail (70).

## **2. Impact des néonicotinoïdes sur les abeilles**

D'autres études ont été menées à plus faible échelle. Elles toutes pour autant apporté des informations quant aux risques liés à l'exposition aux néonicotinoïdes et ont fait évoluer la législation en lien avec l'autorisation d'utilisation et les conditions d'utilisation de ces produits.

Au printemps 2008, des cas d'intoxications d'abeilles ont été signalés lors de l'ensemencement de maïs traité dans la vallée du Rhin et dans certaines parties de la Bavière en Allemagne (73). L'intoxication a été provoquée par l'abrasion de poussières de semences de maïs traitées avec l'insecticide Poncho Pro (clothianidine) et lors du semis à l'aide de semoirs pneumatiques, cette poussière contenant la substance active a été rejeté dans l'environnement. Très probablement, les abeilles ont collecté passivement ces particules de poussière qu'elles ont rapporté dans leurs ruches.

Après cet incident, la Commission européenne a demandé à l'Autorité européenne de sécurité des aliments (EFSA) de procéder à une évaluation des risques. L'EFSA a publié ses conclusions en 2013 (EFSA 2013a), en ce qui concerne le thiaméthoxame (EFSA 2013b), l'imidaclopride (EFSA 2013c) et la clothianidine. Pour cet organisme, il existe des risques aigus élevés pour les abeilles lors d'exposition à des produits phytopharmaceutiques contenant de la clothianidine, du thiaméthoxame (EFSA 2013b) et de l'imidaclopride ; par exposition à la poussière de cultures, la consommation de résidus de pollen et de nectar de graines traitées. En outre, l'EFSA a identifié un certain nombre de lacunes dans les données pour chacun des composés évalués, notamment en ce qui concerne les risques à long terme pour les abeilles domestiques. Sur la base de ce rapport, la Commission européenne a estimé que les utilisations jusqu'alors approuvées de la clothianidine, du thiaméthoxame et de l'imidaclopride ne pouvaient plus satisfaire aux critères d'approbation prévus par le règlement (CE) n°1107/2009.

Une étude menée en Allemagne par Janke et Rosenkranz présente une analyse des pertes hivernales de colonies d'abeilles pour un échantillon de 120 ruches et 1200 colonies, entre 2005 et 2008. (74). Dans cette étude, les pertes hivernales des colonies surveillées ont varié en moyenne de 7,9 à 15,9%, avec près du tiers des colonies ne subissant aucune perte et 15% enregistrant des pertes supérieures à 20%.

Les échantillons de pain d'abeille collectés pendant ou après la floraison du colza au printemps ont été analysés à l'aide d'une méthode multi-résidus sensible. Sur 215 échantillons analysés, plus de 55 ingrédients actifs ont été trouvés. Des fongicides, des varroacides et des herbicides principalement. La clothianidine n'a été détectée dans aucun échantillon et l'imidaclopride n'a été détecté que dans un échantillon (3 µg/kg). Seuls quelques échantillons ne contenaient pas de résidus. Il a été conclu qu'aucun effet aigu des pesticides sur les colonies d'abeilles n'était attendu, la perte hivernale devant être en lien avec les infestations de Varroa et les infections virales.

Une évaluation plus détaillée de ce projet allemand sur la surveillance de la mortalité hivernale des colonies d'abeilles a été réalisée par Genersch et al. en 2009 (75). Elle a confirmé l'absence de lien entre les taux de pertes hivernales et l'utilisation des néonicotinoïdes ; cette utilisation étant mesurée par leur présence dans les graines de colza et/ou le pain d'abeille. Par contre, le taux d'infestation par Varroa et par une infection virale (virus des ailes déformées (DWV) et virus aigu de la paralysie des abeilles (ABPV)) en automne était très élevé. D'autre part, un effet significatif a été démontré pour l'âge de la reine: les colonies qui ont survécu à l'hiver avaient en moyenne des reines plus jeunes que les colonies qui avaient connu des pertes pendant l'hiver. Le nombre d'abeilles de la colonie aurait également un rôle important pour la survie de l'hiver.

Des échantillons d'abeilles, de miel et de pollen ont été collectés auprès de dix-huit ruchers de l'Ouest de la France (Bretagne et Pays de la Loire) dans quatre contextes paysagers différents au cours de quatre périodes différentes en 2008 et en 2009 (76).

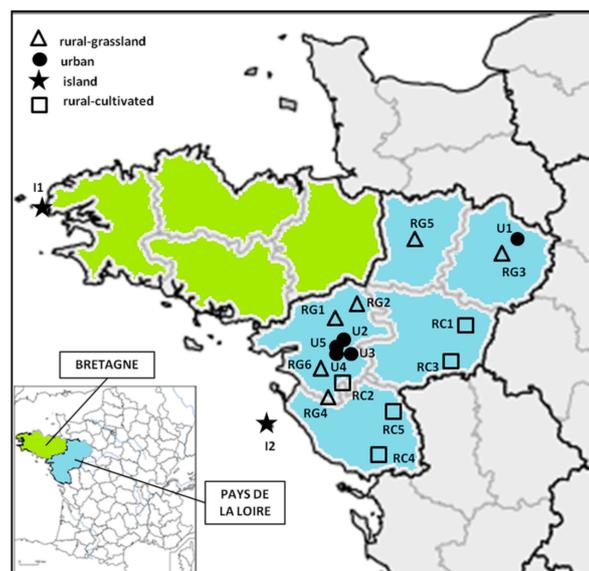


Figure 48 : Localisation des 18 ruchers collectés en 2008 et 2009 dans des contextes paysagers différents (76)

Ces échantillons ont été analysés pour évaluer la présence de pesticides et de résidus. Une analyse multi-résidus a permis de quantifier quatre-vingt pesticides (carbamates, néonicotinoïdes, imidazoles, organophosphorés, phénylamides, etc.). Au total, 141 échantillons d'abeilles mellifères, 141 échantillons de miel et 128 échantillons de pollen ont été recueillis auprès des 18 ruchers en 2008 et 2009. Parmi ceux-ci, 102 (72,3%), 135 (95,7%) et 75 (58,6%) des contenaient respectivement au moins un composé recherché, avec un nombre légèrement plus élevée pour les miels (28 composés) que pour les pollens (23 composés) ou les abeilles (20 composés). Toutefois, les concentrations les plus élevées étaient retrouvées dans les pollens. Les trois résidus les plus fréquents étaient un fongicide (le carbendazime) et deux acaricides (l'amitrazé et le coumaphos). La clothianidine n'a été détectée dans aucun échantillon, alors que l'imidaclopride a été détecté dans trois échantillons de miel.

Une seconde étude d'une durée de quatre ans a été menée par Pilling et al. dans quatre régions Françaises : l'Alsace, la Picardie, la Champagne et le Midi-Pyrénées (77). Cette étude visait à étudier le niveau d'exposition des abeilles à des résidus de thiaméthoxame et clothianidine (son métabolite) dans le pollen et le nectar recueilli à partir de semences de maïs et de colza traitées. Elle visait également à étudier l'impact de ces expositions sur les colonies pour une période de quatre ans. Pour ceci, les abeilles ont été exposées à un habitat comprenant un champ de culture de 2 ha non traité sur un site (C = Contrôle) et à un champ de culture de 2 ha traité au thiaméthoxame sur l'autre (T = Traité). Tous les essais ont utilisé la dose maximale approuvée de thiaméthoxame (88,2 g/ha pour le maïs et 12,6 g/ha pour le colza) et les ruches ont été évaluées avant, pendant et après l'exposition aux cultures. Les résidus de thiaméthoxame variaient de 1 à 2 mg / kg dans le nectar de maïs et de 0,5 à 3 mg/kg dans le nectar de colza. Cependant, la mortalité, le comportement de recherche de nourriture, la force de la colonie, le poids de la colonie, le développement du couvain et les niveaux de stockage de la nourriture étaient similaires entre les colonies exposées et les colonies témoins.

Dans la région du Péloponnèse, en Grèce, des apiculteurs ont signalés des décès subits, des comportements inhabituels et un déclin des populations d'abeilles adultes (78). Une étude préliminaire a été menée afin d'étudier ces phénomènes inexplicables dans cette région ; 37 échantillons ont été prélevés dans les colonies touchées auprès de cinq ruchers. Les abeilles adultes symptomatiques ont été testées positives au *Varroa destructor*, à *Nosema ceranae*, le virus de la paralysie chronique des abeilles (CBPV), le virus de la paralysie aiguë (ABPV), le virus des ailes déformée (DWV), le virus du Sacbrood (SBV) et le virus de la reine noire (BQCV). Les recherches de résidus de pesticides ont révélé que l'amitrazé, le

thiaméthoxame, la clothianidine et l'acétamipride étaient tous absents, sauf l'imidaclopride qui était présent dans trois des cinq ruchers échantillonnés. Les concentrations en pesticides étaient en moyenne d'environ 3 ng/abeille ; une concentration proche du seuil inférieur de la dose de DL<sub>50</sub> orale aiguë, qui se situe entre 3,7 et 40,9 ng/abeille. Ainsi, les auteurs concluaient que l'imidaclopride faisait partie des facteurs favorisant les décès d'abeilles (avec les infections virales, les fluctuations de température et d'humidité, notamment).

Dans une autre étude réalisée en Grèce (2011-2013), des échantillons d'abeilles domestiques, de pollen et de miel provenant de différentes régions du pays, où des incidents avaient été signalés, ont été analysés. Dans la majorité des cas, les zones étaient rurales et l'activité agricole était importante (79) ; 71 échantillons ont été prélevés : 44 abeilles domestiques, 14 échantillons de pollen et 13 de miel. L'analyse des échantillons a révélé la présence de 14 substances actives : 73% des abeilles mellifères, 43% du pollen et 0,1% des échantillons de miel étaient positifs pour au moins un composé. Différents néonicotinoïdes ont été identifiés, dont la clothianidine. Les concentrations retrouvées chez les abeilles mellifères étaient comprises entre 0,7 et 14,7 ng/abeille en 2011, 2,7 à 39,9 ng/abeille en 2012 et 6,1 à 6,8 ng/abeille en 2013 ; toujours des valeurs très proches de la DL<sub>50</sub>.

Deux régions du nord de l'Italie (Lombardie et Vénétie) ont mis en place un réseau institutionnel permettant aux apiculteurs constatant des dommages sur leurs abeilles de faire un signalement à l'autorité vétérinaire locale. Cela a été suivi d'une inspection des ruchers et de la collecte d'échantillons (abeilles mortes et pollen de la végétation environnante) pour l'analyse des agents pathogènes et des résidus de néonicotinoïdes (80). Les analyses d'abeilles mortes (105 échantillons d'abeilles objectivement décédées d'aucune cause pathologique) ont révélé la présence de trois résidus de néonicotinoïde : 25,7% d'imidaclopride, 25,8% de thiaméthoxame, 2,7% de clothianidine, 4,7% d'imidaclopride et de thiaméthoxame ; avec des concentrations variant de 1,01 à 240,6 ng d'imidaclopride/g, de 3,67 à 39,2 ng de clothianidine /g et de 24,8 à 138 ng de thiométhoxame /g. Après un examen visuel et des analyses virologiques, les auteurs n'ont pas estimé qu'une cause pathologique soit responsable des dommages signalés. Ainsi, ils ont conclu à une relation spatiale et temporelle entre la mortalité des abeilles et les traitements par néonicotinoïdes.

En conséquence, l'utilisation de ces néonicotinoïdes pour la préparation des semences de maïs a été suspendue en Italie en septembre 2008. L'année suivante, une surveillance a été effectuée dans 60 ruches réparties dans des zones représentatives de la région de Friuli Venezia Giulia et il n'a été observé aucun déclin de la population ni aucune surmortalité au

moment des semis de maïs. Toutefois, après l'entrée en vigueur de la restriction, un taux de perte deux fois plus élevé a été relevé (en 2014/15).

Une étude avec un design assez proche a été réalisée en Pologne en 2012 (81). Quinze colonies d'abeilles en bonne santé ont été placées à proximité de champs de colza pour lesquels de la clothianidine, du thiaméthoxame et de l'imidaclopride étaient utilisés pour le traitement des semences et l'acétamipride et le thiaclopride ont été utilisés pour la pulvérisation foliaire. Des échantillons de nectar et de pollen ont été collectés tout au long de la floraison et des échantillons de pain d'abeille (mélange de pelotes de pollen, de miel et de ferments lactiques), de miel et d'abeilles adultes ont été prélevés une semaine après la fin de la floraison. Le thiaméthoxame, le thiaclopride et l'acétamipride ont été les plus fréquemment détectés, tandis que la clothianidine n'a été décelée que dans 17% des échantillons combinés de nectar et de miel (teneur moyenne de 2,3 ng / g) et dans 11% des échantillons de pollen. Tous les insecticides néonicotinoïdes appliqués étaient présents dans les échantillons de nectar et de pollen, bien qu'ils se situaient bien en dessous des valeurs de DL<sub>50</sub> (82).

Au Canada, une étude a également été menée afin d'évaluer les effets de l'exposition du colza en fleurs (canola) issu de semences traitées à la clothianidine (83). Les colonies d'abeilles ont été placées au milieu de champs d'un hectare: quatre champs traités et quatre champs témoins non traités avec quatre colonies dans chaque champ. Dans les champs traités, la graine de colza oléagineuse a été traitée avec du Poncho 600 FS (clothianidine) à 400 g /100 kg de semences et semée à 8,0 kg/ha de sorte que la clothianidine soit appliquée à 32 g/ha.

La mortalité des abeilles, la longévité des abeilles ouvrières et le développement des couvées ont été régulièrement évalués dans chaque colonie pendant 130 jours. Des échantillons de miel, de cire d'abeille, de pollen et de nectar ont été régulièrement prélevés au cours de cette période pour l'analyse des résidus de clothianidine. Les gains de poids et les rendements en miel des colonies des champs traités ne différaient pas de ceux des champs témoins. Seulement 14% des colonies vivantes en automne ne survivaient pas à l'hiver (considérées comme typiques de la région) et la moitié d'entre elles étaient des colonies témoins.

Des résidus de clothianidine ont été détectés dans le miel, le nectar et le pollen de colonies des champs traités à la clothianidine et dans quelques échantillons de nectar de contrôle, mais les concentrations maximales détectées étaient de 8 à 22 fois inférieures à la Concentration Sans Effet Observé (CSEO) de 20 ppb utilisée ici comme référence. Les résidus de clothianidine n'ont été détectés dans aucun échantillon de cire d'abeille. Globalement, aucune différence dans la mortalité des abeilles, la longévité des ouvrières ou le développement des

couvées n'a été observé entre les groupes au cours de l'étude. Il a donc été conclu que l'exposition sur le terrain au colza traité à la clothianidine à une dose de 8,0 kg / ha présentait un risque négligeable pour les abeilles mellifères.

Une seconde étude a été menée en 2012 dans le sud de l'Ontario, toujours au Canada (84). Pendant la floraison, dans cinq champs de semences de canola traités avec de la clothianidine quatre colonies ont été disposées et il a été fait de même dans cinq champs témoins non traités. Les semences avaient été traitées avec une formulation contenant 20,4% de clothianidine. Après la floraison, les colonies ont été déplacées dans un rucher sans culture avoisinante de semences traitées avec des néonicotinoïdes.

Des échantillons de miel, de cire d'abeille, de pollen et de nectar ont une fois encore régulièrement collectés et analysés pour rechercher les résidus de clothianidine. Au total, les colonies étaient vigoureuses pendant et après la période d'exposition et aucun effet sur l'exposition au colza traité à la clothianidine n'a été constaté. Il a été conclu que l'exposition au canola cultivé à partir de semences traitées à la clothianidine présenterait un faible risque pour les abeilles mellifères.

### **3. La toxicologie des néonicotinoïdes chez l'homme**

Comme nous avons déjà discuté, les pesticides néonicotinoïdes ont été largement utilisés pour la production de fruits et de légumes, et ont parfois été détectés dans des produits cultivés. Ainsi, la question d'une exposition aux pesticides néonicotinoïdes dans la population générale est légitime. Toutefois, les métabolites des néonicotinoïdes dans les fluides corporels humains n'ont jamais fait l'objet de beaucoup d'études.

Une étude Japonaise datant de 2013 dresse un profil qualitatif et quantitatif des métabolites de néonicotinoïdes dans l'urine (85). Plus précisément, des échantillons d'urine ont été prélevés chez trois patients suspectés d'une exposition subaiguë à des pesticides néonicotinoïdes. Concernant les habitudes alimentaires, deux patients consommaient beaucoup de fruits (> 500 g / jour) ou de boissons à base de thé (> 500 ml / jour) avant la première visite. Ils étaient suspectés d'intoxication subaiguë par les pesticides néonicotinoïdes, et présentant des symptômes non spécifiques : céphalées, asthénie, paresthésies et amnésie à court terme notamment. Tous présentaient d'autre part des résultats électrocardiographiques anormaux : tachycardie, bradycardie, arythmie, retard de conduction électrique et allongement de l'intervalle QT.

Case	Sex	Age	Electrocardiographic (ECG) findings	Heart rate (bpm)	Intake of fruit and tea beverage before urine sampling	Maximum CPM-3 detection in urine by LC/MS analysis	Total days to need the symptoms and ECG abnormality diminished	The day of urinesampling in this study
#1	F	22	Intermittent WPW syndrome	110	Tea, grapes, Asian pear	59.1 ng/mL (on the 2 <sup>nd</sup> day)	25 days	on the first day of visit
#2	F	27	Sinus tachycardia, QT prolongation	100	Asian pear	6.1 ng/mL (on the 4 <sup>th</sup> day)	8 days	on the first day of visit
#3	F	34	Regular sinus rhythm* (on the 73 <sup>rd</sup> day)	68	None**	12.0 ng/mL (on the 5 <sup>th</sup> day)	43 days	on the 73rd day after the first visit

\* Sinus bradycardia (53 bpm), ST-T change at the first visit. \*\* Tea and Asian pear before the first visit. Data were partially reported in our previous article [11].  
doi: 10.1371/journal.pone.0080332.t001

**Figure 49 :** Données démographiques et résultats cliniques des patients suspectés d'une exposition subaiguë aux néonicotinoïdes.

Deux échantillons d'urine ont été recueillis chez chaque patient. Un des trois patients s'était vu interdire sa consommation de fruits et de boisson à base de thé après la première visite et a guéri de ses symptômes.

Un profil qualitatif des métabolites urinaires a été réalisé par chromatographie en phase liquide / spectrométrie de masse à temps de vol (LC / TOFMS) avec une méthode capable de détecter 57 métabolites connus de trois pesticides néonicotinoïdes (acétamipride, imidaclopride et clothianidine). Sept métabolites ont été détectés dans l'urine des 3 patients:

- un métabolite de l'acétamipride : le *N-desméthylacétamipride (AM-2)*,
- trois métabolites d'imidaclopride : le *5-hydroxy-imidaclopride*, le *4,5-dihydroxy-imidaclopride*, le *4,5-déhydro-imidaclopride*,
- un métabolite commun de l'acétamipride et de l'imidaclopride : la *N- (6-chloronicotinoyl) -glycine (CPM-3)*,
- deux métabolites de la clothianidine : la *N-desméthyl-clothianidine*, la *N- (2-(méthylsulfanyl) thiazole-5-carboxyle) -glycine*.

Case	Name	SPE condition/ionization mode						LC/TOFMS Decision	Conc. (ng/mL)
		Acid/+	Acid/-	Neutral/+	Neutral/-	Base/+	Base/-		
#1	Acetamidrid	23	39	0	0	0	0	<LOQ	0.058 *
	AM-2	807	246	1028	700	1191	840	Detected	3.2
	CPM-8	0	30956	0	1027	0	0	Detected	N.D. **
	IM-1	73	11	32	31	24	49	<LOQ	N.D.
	IM-3	0	401	0	0	0	0	Detected	N.D.
	IM-7	11	649	0	596	62	606	Detected	N.D.
	CM-1	0	19	0	5	0	17	<LOQ	N.D.
	CTM-8	0	4444	0	13	0	6	Detected	N.D.
#2	Acetamidrid	303	0	193	0	217	0	Detected	< LOD
	AM-2	7	0	0	0	0	0	<LOQ	< LOD
	CPM-8	0	5128	0	3111	0	0	Detected	N.D.
	IM-1	436	0	410	0	345	6	Detected	N.D.
	IM-3	0	658	0	0	0	0	Detected	N.D.
	IM-7	0	29	5	60	0	0	<LOQ	N.D.
	CM-1	0	195	0	100	0	95	Detected	N.D.
	CTM-8	0	2449	12	0	0	0	Detected	N.D.
#3	Acetamidrid	0	5	0	0	0	0	<LOQ	< LOD
	AM-2	252	8	148	46	181	70	Detected	0.48 *
	CPM-8	0	8529	0	1102	0	0	Detected	N.D.
	IM-1	458	0	220	0	133	0	Detected	N.D.
	IM-3	0	914	0	0	0	6	Detected	N.D.
	IM-7	16	34	0	30	0	0	<LOQ	N.D.
	CM-1	0	0	0	0	0	0	<LOQ	N.D.
	CTM-8	0	167	0	0	0	0	Detected	N.D.

LOD and LOQ stand for the lowest level of detection and the lowest level of quantification, respectively.

\* Less than LOQ, \*\* N.D. stands for not determined.

doi: 10.1371/journal.pone.0080332.t006

**Figure 50 :** Les taux moyens des métabolites de pesticides néonicotinoïdes détectés par LC / TOFMS et les concentrations déterminées par LC / MS / MS dans l'urine de trois cas.

Le résultat de l'analyse quantitative des urines des trois patients a montré que la N-desméthylacétamidride (AM-2) a été détecté et dosée dans l'urine du patient n°1 recueilli lors de la première visite à une concentration de 3,2 ng / mL.

Bien que la relation entre les taux d'AM-2 urinaire et les taux plasmatiques d'acétamidride soit inconnue, les auteurs ont conclu que ce « patient avait été exposé à l'acétamidride à un niveau toxique lors de la consommation d'aliments ».

Une seconde étude japonaise méthode basée sur une méthode permettant le dosage de 7 néonicotinoïdes (acétamidride, imidaclopride, thiaclopride, thiametoxame, clothianidine, dinotéfurane et nitenpyrame) dans les urines a également été publiée (86). Cette méthode a été appliquée chez 52 adultes japonais sans exposition professionnelle aux néonicotinoïdes (41 hommes et 11 femmes).

	>LOD (%) <sup>a</sup>	GM (GSD)	Selected percentiles					Max.
			5 th	25 th	50 th	75 th	95 th	
Acetamiprid	56	N.C <sup>c</sup>	<LOD <sup>b</sup>	<LOD	0.02	0.06	0.18	0.36
Imidacloprid	96	1.54 (2.7)	0.3	1.0	1.9	3.1	6.9	8.2
Thiacloprid	67	N.C	<LOD	<LOD	0.14	0.23	0.35	0.50
Thiamethoxam	100	0.56 (2.8)	0.1	0.3	0.5	1.4	3.0	6.2
Clothianidin	96	0.57 (3.4)	0.1	0.4	0.7	1.0	3.5	6.6
Dinotefuran	100	2.27 (2.6)	0.5	1.2	2.3	3.5	18.3	27.4
Nitenpyram	29	N.C	<LOD	<LOD	<LOD	0.17	0.85	1.03

<sup>a</sup>Percent of detection frequency. <sup>b</sup>Lower than the level of limit of detection. <sup>c</sup>Data not calculated due to its low detection frequency. NEO, neonicotinoid. GM, geometric mean. GSD, geometric standard deviation. LOD, limit of deviation.

**Figure 51 :** Concentration urinaire de néonicotinoïdes (µg/ L)

La fréquence de détection de néonicotinoïdes dans les échantillons urinaires était très élevée : >90% pour l'imidaclopride, le thiaméthoxame, la clothianidine et le dinotéfurane, >50% pour l'acétamipride et le thiaclopride et ~30% pour le nitenpyrame. Les concentrations médiane et maximale de néonicotinoïdes dans l'urine étaient relativement plus élevées pour le dinotéfurane (2,3 et 27,4 µg/L, respectivement) et pour l'imidaclopride (1,9 et 8,2 µg/L). Selon des données récentes au Japon, le dinotéfurane et l'imidaclopride se classeraient respectivement au premier et au deuxième rang des sept composants néonicotinoïdes utilisés. Ceci explique certainement pourquoi ces résultats mettaient en évidence une exposition aux néonicotinoïdes chez ces adultes japonais.

# **PARTIE IV : DOSAGE DES PESTICIDES NEONICOTINOÏDES DANS LE MIEL PROVENANT DU LOT et le sud de la Corrèze**

---

## **1- Contexte des travaux**

Au cours de l'année 2019, le laboratoire de pharmacologie-toxicologie du CHU de Limoges, le laboratoire de chimie analytique et bromatologie de la faculté de pharmacie de Limoges, et le rucher école de Rocamadour (RER) dirigé par Olivier du Peloux, se sont associés pour réaliser une étude permettant l'analyse de miels produits dans le Lot et le Sud de la Corrèze.

Cette collaboration a des objectifs multiples, mais vise au moins à répondre aux questions suivantes : les produits apicoles de ce territoire contiennent-ils des pesticides ? Les différentes pratiques apicoles des adhérents au rucher ont-elles un impact sur la présence de pesticides ou non dans leurs produits ? L'environnement de chaque ruche a-t-il un impact sur la présence ou non de pesticides dans le miel (mais également le pollen, le miellat, les cires, les abeilles) ?

A l'automne 2019, le RER compte 114 adhérents, détenant chacun de 1 à plus de 100 ruches réparties sur le Nord du département du Lot et le Sud de la Corrèze. Les 900 colonies qu'ils détiennent donnent des miels très variés de par leurs compositions florales, leurs textures et donc leurs goûts. Ce sont essentiellement des miels «toutes fleurs».

Pour débiter les études, le premier enjeu a été de sélectionner des ruchers installés dans des zones à caractéristiques paysagères différenciées. Schématiquement, il existe :

- Deux grands plateaux calcaire : les causses de Martel & Gramat (Zone 1) avec une agriculture essentiellement consacrée à l'élevage ovin et une végétation typique de ces sols karstiques.
- La vallée alluvionnaire de la Dordogne (Zone 2), encadrée au Nord et au Sud par les deux causses, zone de polyculture mais aussi avec des noyeraies en très forte expansion.
- Aux débouchés de la Dordogne :
  - A l'est, le Limargue et le Ségala (Zone 3), avec de nombreuses exploitations d'élevage bovin sur des sols marneux ou granitiques et une dominante de chênes, frênes.
  - A l'Ouest, la Bouriane (Zone 4) avec ses collines sableuses très boisées en châtaigniers et pins maritimes.

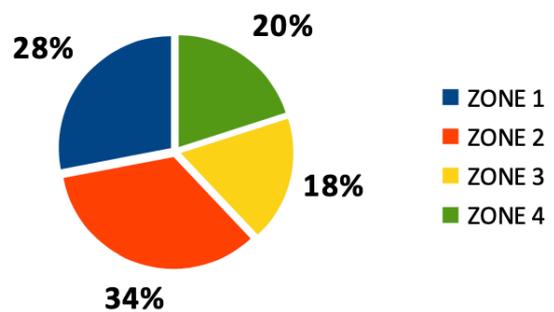


Figure 52 : La répartition des ruchers par zones

Les risques pouvant avoir des impacts forts sur les colonies sont :

- Les traitements sur les noyers (fongicides et insecticides), phénomène nouveau et prenant de l'ampleur,
- tous les traitements phytosanitaires sur les cultures,
- les épandages de lisiers (palmipèdes, bovins et porcs),
- les épandages de digestat issu de la méthanisation, dont l'unité de Gramat est la plus importante et fait l'objet d'une contestation environnementale forte.

D'autre part, les groupes les moins exposés se situent :

- dans le pied du Ségala, en zone forestière,
- sur les Causses et le Limargue, hors zones d'épandage de digestat et lisiers,
- en Bouriane, à l'exception de quelques communes où la culture du noyer devient intensive.

Chaque participant a été invité à évaluer les risques environnementaux dans un rayon de 3 km autour de son ou ses ruchers sur une échelle de 0 (nul) à 3 (fort), il en ressort les risques moyens évalués :

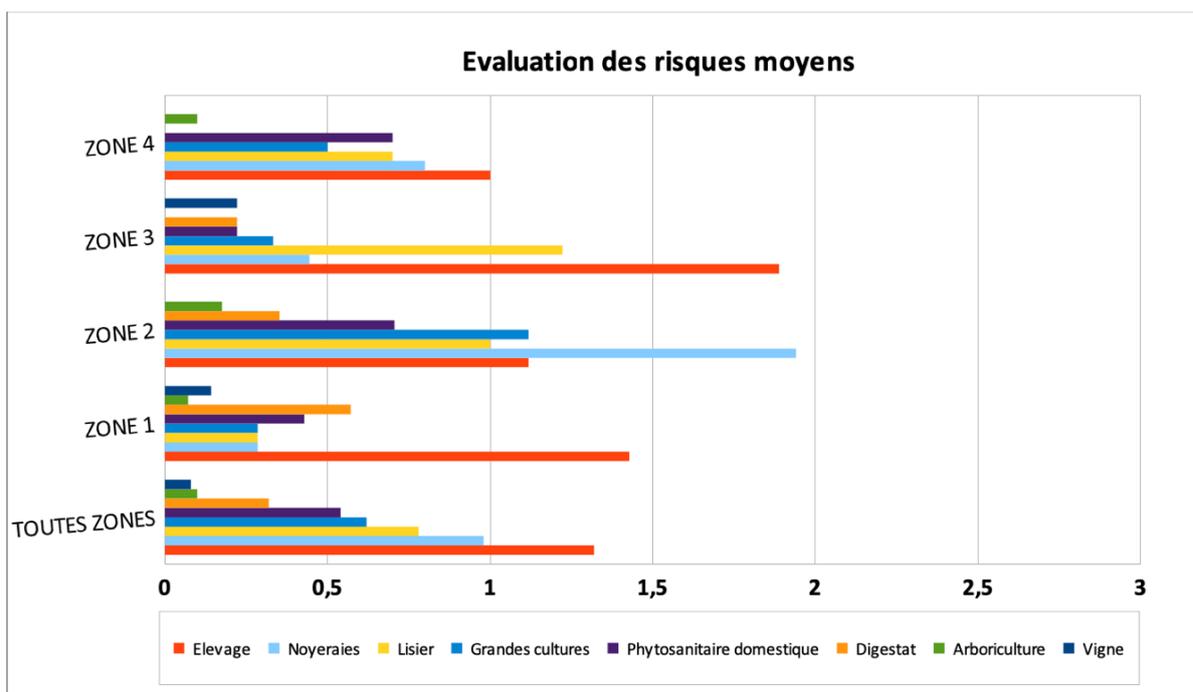


Figure 53 : Évaluation des risques environnementaux

Certains apiculteurs adhèrent à la charte qualité miel instaurée en 2018 par le RER qui définit les bonnes pratiques apicole (voir annexe n°4). L'adhésion à la charte est basée sur le principe de l'engagement volontaire de l'apiculteur à respecter l'intégralité des obligations de celle-ci. La présente charte fixe et garantit la qualité des miels produits par les adhérents du Rucher École de Rocamadour. Dans ce cadre, l'apiculteur s'engage à utiliser les produits de la liste établie par le RER.

- **Lutte anti-varroa :**

Deux types de traitements sont utilisés :

Les traitements chimiques qui utilisent l'amitrazé (Apivar®), tau-fluvalinate (Apistan®) qui sont des produits issus de la chimie et ayant une autorisation de mise sur le marché. Ces produits se présentent sous forme de lanières imprégnées insérées entre les cadres lors de la dernière récolte de miel. Ce procédé permet une libération lente de la matière active pendant 6 à 10 semaines.

Les traitements alternatifs sont utilisés en traitement flash. Ce sont des acides organiques : acide formique et acide oxalique parfois couplés avec des moyens mécaniques (encagement des reines). Ces acides organiques sont censés ne pas laisser de traces de résidus dans le miel et la cire.

- **Provenance des cires :**

**Cires du commerce** : elles sont actuellement très controversées pour leur adultération et les molécules qu'elles contiennent.

**Cires personnelles** : provenant de leurs propres cires d'opercules pour gaufrer leurs cires.

- **Emplacement des ruches :**

Les ruches doivent être situées dans un endroit sec, aéré, ensoleillé et convenablement isolé de l'humidité du sol. L'emplacement des ruches doit être choisi de façon à éviter le butinage sur les cultures recevant des pesticides. Le désherbage chimique est interdit autour des ruches.

- **Nourrissement :**

L'apiculteur utilise du sirop, candis et des compléments alimentaires issus de l'agriculture traditionnelle ou biologique, à l'exception de ceux contenant des OGM.

Le nourrissement des colonies doit être limité :

- A la période de mise en hivernage.
- Au début du printemps, hors périodes de miellées et de récoltes.

## **2- Étude réalisée en septembre 2019**

Une première étude dont je vais rapporter les résultats a été réalisée en septembre 2019. Elle a consisté à récolter des échantillons de miel produit en 2018 et 2019 chez des adhérents du RER afin de rechercher et doser des résidus de pesticides.

### **METHODE ET PROTOCOLE DE PRELEVEMENT :**

Échantillons de la récolte 2018 : ils ont été prélevés dans les pots ou dans les maturateurs.

Échantillons de la récolte 2019 : les prélèvements ont été effectués directement sur les cadres

de hausse, le jour de la récolte. Pour chaque prélèvement un tube a été récupéré par l'apiculteur au RER.



Figure 54 : Tube pour prélèvements

L'apiculteur devait remplir le tube jusqu'à la graduation de 25 ml et accoler une étiquette précisant les informations suivantes :

- Le nom
- Les coordonnées GPS du rucher d'où provient le miel
- Le numéro du rucher
- La date de récolte
- La date du prélèvement

Une fois le prélèvement effectué, les tubes ont été enveloppés dans du papier d'aluminium afin de le préserver de la lumière.



Figure 55 : Photo des échantillons de miel

A la fin de la collecte les prélèvements ont été pris en charge par le laboratoire de pharmacologie-toxicologie du CHU de Limoges.

Au total, 24 échantillons ont été collectés sur l'année 2018 et 51 pour l'année 2019.

#### METHODE D'ANALYSE :

Les miels ont été analysés selon la procédure en vigueur au laboratoire de pharmacologie-toxicologie du CHU de Limoges (accréditation selon la norme ISO 17025). Après mise en œuvre successive d'une méthode d'analyse par LC-MS/MS, d'une méthode d'analyse par GC-MS/MS et d'une méthode d'analyse par GC-HS-MS, 320 pesticides différents sont recherchés et/ou dosés (voir annexe n° 5).

#### RESULTATS et DISCUSSION:

Pour cette première étude préliminaire, 22 échantillons de miels ont été analysés. Un exemple de compte-rendu d'analyse est donné en annexe n°6.

Parmi ces 22 miels :

- 13 étaient exempts de tout pesticide parmi la liste des 320 molécules recherchées,
- 3 contenaient du DMF, un métabolite de l'Amitraze utilisé par les apiculteurs dans la lutte anti-varroa,
- 6 contenaient du Clodinafop, un herbicide utilisé par les céréaliers,
- 3 échantillons contenaient des Dithiocarbamates (maneb, mancozeb, metiram, propineb, thiram et ziram), des herbicides utilisés dans les cultures maraichères et céréalières,
- 4 contenaient du Métamitron, un herbicide,
- 1 contenait du Piperonyl butoxide , un synergisant utilisé dans de nombreux pesticides Pyréthrinoïdes.

Les résultats détaillés sont présentés dans le tableau suivant :

N°échantillon	Zone	Dithiocarbamates	Metamitron	DMF (metabolite de l'amitraze)	Piperonyl butoxide	Clodinafop
1	Zone 3					
2	Zone 3					
26	Zone 3					
27	Zone 3					
28	Zone 2		0,008			0,006
29	Zone 2					
3	Zone 2	<0.01				
33	Zone 4		0,011			0,006
34	Zone 1					
35	Zone 2	<0.01	0,009			<0.005
5	Zone 2					
6	Zone 3	<0.01		<0.005		<0.005
11	Zone 2					
18	Zone 2			0,006		
20	Zone 1			<0.005		
36	Zone 3	<0.01	0,013			0,005
49	Zone 2					
53	Zone 2					
55	Zone 2					
67	Zone 2					0,007
70	Zone 1					
71	Zone 1				<0.005	

Tableau 3 : Résultats du dosage des différents échantillons de miel (en mg/kg)

Nous n'avons pas décelé de néonicotinoïdes dans les échantillons de miel que nous avons analysés. Cependant d'autres pesticides, et plus particulièrement herbicides, ont été détectés. Il n'a toutefois pas été détecté de glyphosate.

Les différentes pratiques apicoles ont un réel impact sur la présence de pesticides dans le miel. En effet, du DMF, le métabolite de l'amitraze a été détecté dans des échantillons de miel provenant d'adhérent utilisant de l'amitraze pour lutter contre le varroa.

Ces premiers résultats soutiennent le bienfondé de la collaboration qui a débuté entre le RER et les 2 laboratoires du CHU et de la faculté de pharmacie. La présence de certains pesticides et notamment les traces d'un usage de l'amitraze sont des premières informations importantes à transmettre aux adhérents du rucher.

Dans les prochains mois, de nombreux travaux vont être menés qui permettront, sur la base d'un échantillonnage bien plus important, de répondre à d'autres questions : quel est l'impact de l'environnement des ruches sur la qualité du miel ? Quelles pratiques doivent être favorisées pour maintenir la qualité et la quantité des produits apicoles ? Pour ce, des prélèvements de cires, de cadres, de pollens et d'abeilles mortes sont également planifiés.

## Conclusion

---

Depuis une vingtaine d'années, les apiculteurs signalent une diminution significative des populations d'abeilles à l'échelle mondiale. Si plusieurs hypothèses sont possibles, les néonicotinoïdes sont pointés du doigt par les apiculteurs. Mis sur le marché dans les années 1990, les néonicotinoïdes (NNC) font partie des pesticides les plus utilisés dans le monde. Cette famille regroupe sept molécules : l'imidaclopride, l'acétamipride, le nitenpyrame, le thiaméthoxame, le thiaclopride, la clothianidine et le dinotéfurane. Ils sont utilisés dans l'agriculture pour la protection des cultures par traitement du sol, des parties aériennes ou encore pour l'enrobage des semences. Leurs effets systémiques ainsi que leur longue persistance dans l'environnement sont à l'origine de la polémique. Le but de cette thèse était de faire un bilan des connaissances scientifiques actuelles sur les NNC et leur impact sur les abeilles. En effet, ils ont une action systémique et ont un mécanisme d'action identique à celui de la nicotine en se fixant notamment sur les récepteurs nicotiques de l'acétylcholine (nAChRs) des insectes. C'est la raison pour laquelle l'utilisation et la toxicité de ces pesticides est remise en cause face au déclin des populations d'abeilles.

Il s'agit d'un phénomène très médiatisé à l'heure actuelle et tout un chacun peut avoir entendu parler des « pesticides tueurs d'abeilles ».

Au niveau scientifique, de nombreuses recherches ont été effectuées à travers le monde, avec des études à plus ou moins grande échelle menées sur des périodes de temps plus ou moins longues. De manière générale, la fréquence de détection de ces pesticides serait négligeable, et lorsque ceux-ci ont été détectés, les concentrations mesurées étaient faibles (en dessous des LMR). Le plus souvent, ces études ont donc conclu à l'absence d'une relation entre le déclin des populations d'abeilles et les pesticides néonicotinoïdes.

Ainsi, aujourd'hui il est impossible de conclure sur l'existence d'une cause précise et unique au déclin des populations d'abeilles. Toujours est-il que ce déclin des abeilles existe concrètement ! Si les néonicotinoïdes n'en sont pas la seule cause, de nombreux autres facteurs peuvent certainement y contribuer ; des facteurs que l'on regroupe usuellement sous le terme de « changement climatique », propagation de parasites ou d'agents pathogènes.

En attendant la preuve irréfutable par la science, des décisions politiques ont toutefois été prises et ont abouti à l'interdiction d'utilisation des néonicotinoïdes depuis le 1<sup>er</sup> septembre 2018.

## Références bibliographiques

---

1. Biologie de l'abeille.pdf [Internet]. [cité 13 mai 2019]. Disponible sur: <http://ekladata.com/QPHGzNqBPBpKwpdho6j-krOSMLc.pdf>
2. Ehle - Morphologie externe de l'abeille mellifère7.pdf [Internet]. [cité 13 mai 2019]. Disponible sur: [http://www.cari.be/medias/abcie\\_articles/169\\_fiche\\_pedagogique.pdf](http://www.cari.be/medias/abcie_articles/169_fiche_pedagogique.pdf)
3. 153\_fiche1.pdf [Internet]. [cité 13 mai 2019]. Disponible sur: [http://www.cari.be/medias/abcie\\_articles/153\\_fiche1.pdf](http://www.cari.be/medias/abcie_articles/153_fiche1.pdf)
4. Classification des insectes | Au Bon Miel [Internet]. [cité 23 avr 2019]. Disponible sur: <https://www.aubonmiel.com/classification-des-insectes/>
5. 171\_fiche\_bio.pdf [Internet]. [cité 13 mai 2019]. Disponible sur: [http://www.cari.be/medias/abcie\\_articles/171\\_fiche\\_bio.pdf](http://www.cari.be/medias/abcie_articles/171_fiche_bio.pdf)
6. anatomie\_et\_biologie\_generale.pdf [Internet]. [cité 27 avr 2019]. Disponible sur: [http://www.abeille-provencale.net/IMG/pdf/anatomie\\_et\\_biologie\\_generale.pdf](http://www.abeille-provencale.net/IMG/pdf/anatomie_et_biologie_generale.pdf)
7. Clément H. Le traité Rustica de l'apiculture. Paris: Rustica; 2009.
8. La morphologie de l'abeille | Famille Michaud Apiculteurs [Internet]. [cité 27 avr 2019]. Disponible sur: <http://www.famillemichaud.com/le-miel-et-vous/morphologie-abeille/>
9. L'antenne de l'abeille [Internet]. La Catoire Fantasque. 2017 [cité 27 avr 2019]. Disponible sur: <https://catoire-fantasque.be/antenne-abeille/>
10. Fayet - Images en microscopie électronique à balayage Ab.pdf [Internet]. [cité 13 mai 2019]. Disponible sur: [http://www.cari.be/medias/abcie\\_articles/165\\_fiche\\_bio.pdf](http://www.cari.be/medias/abcie_articles/165_fiche_bio.pdf)
11. Quendolo D, Vezinet S. Les abeilles: biologie et comportement. Paris: Éditions Frison-Roche; 2016.
12. ENCYCLOPEDIE UNIVERSELLE DE LA LANGUE FRANCAISE - ABEILLES - LA TÊTE - L'APPAREIL BUCCAL [Internet]. [cité 27 avr 2019]. Disponible sur: <https://www.encyclopedia-universelle.net/abeille1/abeille-anatomie-bouche.html>
13. Ehle - Morphologie externe de l'abeille mellifère8.pdf [Internet]. [cité 13 mai 2019]. Disponible sur: [http://www.cari.be/medias/abcie\\_articles/fichebio\\_170.pdf](http://www.cari.be/medias/abcie_articles/fichebio_170.pdf)
14. La morphologie de l'abeille [Internet]. La Catoire Fantasque. 2017 [cité 13 mai 2019]. Disponible sur: <https://catoire-fantasque.be/morphologie-abeille/>
15. Fayet - FMI CI EHLE PÉDAGOGIQUE.pdf [Internet]. [cité 13 mai 2019]. Disponible sur: [http://www.cari.be/medias/abcie\\_articles/163\\_fichebio.pdf](http://www.cari.be/medias/abcie_articles/163_fichebio.pdf)
16. Fayet - Morphologie externe de l'abeille mellifère5.pdf [Internet]. [cité 13 mai 2019]. Disponible sur: [http://www.cari.be/medias/abcie\\_articles/167\\_fiche\\_les\\_pattes\\_des\\_abeilles.pdf](http://www.cari.be/medias/abcie_articles/167_fiche_les_pattes_des_abeilles.pdf)
17. Fayet A. Morphologie externe de l'abeille mellifère5. :2.
18. Les pattes de l'abeille [Internet]. La Catoire Fantasque. 2017 [cité 13 mai 2019]. Disponible sur: <https://catoire-fantasque.be/pattes-abeille/>
19. 166\_fiche\_bio.pdf [Internet]. [cité 13 mai 2019]. Disponible sur: [http://www.cari.be/medias/abcie\\_articles/166\\_fiche\\_bio.pdf](http://www.cari.be/medias/abcie_articles/166_fiche_bio.pdf)
20. Le système respiratoire de l'abeille [Internet]. La Catoire Fantasque. 2017 [cité 13 mai 2019]. Disponible sur: <https://catoire-fantasque.be/systeme-respiratoire-abeille/>
21. Fayet A. FMI CI EHLE PÉDAGOGIQUE. :2.
22. ENCYCLOPEDIE UNIVERSELLE DE LA LANGUE FRANCAISE - ABEILLES - ANATOMIE - SYSTEMES RESPIRATOIRE et CIRCULATOIRE [Internet]. [cité 1 mai 2019]. Disponible sur: <https://www.encyclopedia-universelle.net/abeille1/abeille-anatomie-appareil-respiratoire-circulatoire.html>

23. Lèveillé P. À quoi servent les abeilles [Internet]. 2013 [cité 13 mai 2019]. Disponible sur: <http://www.inra.fr/%2FGrand-public%2FRessources-et-milieux-naturels%2FTous-les-dossiers%2FAbeilles-pollinisation-biodiversite-pesticides%2FAbeilles-pollinisation-et-biodiversite>
24. anat interne [Internet]. [cité 13 mai 2019]. Disponible sur: [http://www.cari.be/medias/abcie\\_articles/173\\_fiche-biologie.pdf](http://www.cari.be/medias/abcie_articles/173_fiche-biologie.pdf)
25. Le système circulatoire de l'abeille [Internet]. La Catoire Fantasque. 2017 [cité 13 mai 2019]. Disponible sur: <https://catoire-fantasque.be/systeme-circulatoire-abeille/>
26. Le système nerveux de l'abeille [Internet]. La Catoire Fantasque. 2017 [cité 13 mai 2019]. Disponible sur: <https://catoire-fantasque.be/systeme-nerveux-abeille/>
27. Fayet - FMI CI EHLE PÉDAGOGIQUE.pdf [Internet]. [cité 13 mai 2019]. Disponible sur: [http://www.cari.be/medias/abcie\\_articles/172\\_fiche\\_anatomie.pdf](http://www.cari.be/medias/abcie_articles/172_fiche_anatomie.pdf)
28. Le système glandulaire de l'abeille [Internet]. La Catoire Fantasque. 2017 [cité 13 mai 2019]. Disponible sur: <https://catoire-fantasque.be/systeme-glandulaire-abeille/>
29. Le système digestif de l'abeille [Internet]. La Catoire Fantasque. 2017 [cité 13 mai 2019]. Disponible sur: <https://catoire-fantasque.be/systeme-digestif-abeille/>
30. Le système reproducteur de l'abeille [Internet]. La Catoire Fantasque. 2017 [cité 13 mai 2019]. Disponible sur: <https://catoire-fantasque.be/systeme-reproducteur-abeille/>
31. Le cycle de développement des abeilles [Internet]. La Catoire Fantasque. 2017 [cité 13 mai 2019]. Disponible sur: <https://catoire-fantasque.be/cycle-de-developpement-abeilles/>
32. Le cycle de vie des abeilles [Internet]. [cité 13 mai 2019]. Disponible sur: <https://www.apiculture.net/blog/cycle-vie-abeilles-n38>
33. carnet\_pedagogique.pdf [Internet]. [cité 5 mai 2019]. Disponible sur: [http://www.cari.be/medias/autres\\_publications/carnet\\_pedagogique.pdf](http://www.cari.be/medias/autres_publications/carnet_pedagogique.pdf)
34. carnet\_pedagogique.pdf [Internet]. [cité 5 mai 2019]. Disponible sur: [http://www.cari.be/medias/autres\\_publications/carnet\\_pedagogique.pdf](http://www.cari.be/medias/autres_publications/carnet_pedagogique.pdf)
35. La fabrication du miel | Famille Michaud Apiculteurs [Internet]. [cité 13 mai 2019]. Disponible sur: <http://www.famillemichaud.com/la-fabrication-du-miel/>
36. La fabrication du miel [Internet]. [cité 14 mai 2019]. Disponible sur: <http://le-miel-et-les-abeilles.e-monsite.com/pages/la-vie-de-l-abeille/la-fabrication-du-miel.html>
37. Comment les abeilles fabriquent le miel ? ( OPIE ) [Internet]. [cité 14 mai 2019]. Disponible sur: [http://www.insectes.org/insectes/questions-reponses.html?id\\_quest=40](http://www.insectes.org/insectes/questions-reponses.html?id_quest=40)
38. Futura. Abeilles : pourquoi enfumer la ruche ? [Internet]. Futura. [cité 13 mai 2019]. Disponible sur: <https://www.futura-sciences.com/planete/questions-reponses/animaux-abeilles-enfumer-ruche-7113/>
39. [span]Le[/span] miel [Internet]. Alterapi.be. 2014 [cité 14 mai 2019]. Disponible sur: <https://www.alterapi.be/miel>
40. Un blog pour les abeilles » Extracteur 2 [Internet]. [cité 13 mai 2019]. Disponible sur: <https://www.untoitpourlesabeilles.fr/blog/du-cote-de-chez-philippe-chavignon/extraction-miel-4/>
41. De la récolte au conditionnement, la fabrication du miel [Internet]. [cité 9 mai 2019]. Disponible sur: <https://www.apiculture.net/blog/recolte-au-conditionnement-fabrication-du-miel-n49>
42. cristallisationdumiel\_124.pdf [Internet]. [cité 21 mai 2019]. Disponible sur: [http://www.cari.be/medias/abcie\\_articles/cristallisationdumiel\\_124.pdf](http://www.cari.be/medias/abcie_articles/cristallisationdumiel_124.pdf)
43. Cornara L, Biagi M, Xiao J, Burlando B. Therapeutic Properties of Bioactive Compounds from Different Honeybee Products. Front Pharmacol [Internet]. 28 juin 2017 [cité 20 mai 2019];8. Disponible sur:

<http://journal.frontiersin.org/article/10.3389/fphar.2017.00412/full>

44. LOBREAU-CALLEN D, CLÉMENT M-C, MARMION V. Les miels [Internet]. Ref : TIP700WEB - « Agroalimentaire ». 2000 [cité 21 mai 2019]. Disponible sur: <https://www.techniques-ingenieur.fr/base-documentaire/procedes-chimie-bio-agro-th2/filiere-de-production-produits-d-origine-animale-42432210/les-miels-f7000/>
45. Bogdanov S. [Nutritional and functional properties of honey]. *Vopr Pitan.* 2010;79(6):4-13.
46. TAP\_Le\_Miel\_et\_la\_cicatrisation\_des\_plaies\_Dct\_Lechaux.pdf [Internet]. [cité 20 mai 2019]. Disponible sur: [http://www.melibiotech.com/article/photo/dossier96/TAP\\_Le\\_Miel\\_et\\_la\\_cicatrisation\\_des\\_plaies\\_Dct\\_Lechaux.pdf](http://www.melibiotech.com/article/photo/dossier96/TAP_Le_Miel_et_la_cicatrisation_des_plaies_Dct_Lechaux.pdf)
47. Allen KL, Molan PC, Reid GM. A Survey of the Antibacterial Activity of Some New Zealand Honeys. *J Pharm Pharmacol* [Internet]. déc 1991 [cité 20 mai 2019];43(12):817-22. Disponible sur: <http://doi.wiley.com/10.1111/j.2042-7158.1991.tb03186.x>
48. Boukraa L, Sulaiman S. Rediscovering the Antibiotics of the Hive. *Recent Patents Anti-Infect Drug Disc* [Internet]. 1 nov 2009 [cité 20 mai 2019];4(3):206-13. Disponible sur: <http://www.eurekaselect.com/openurl/content.php?genre=article&issn=1574-891X&volume=4&issue=3&page=206>
49. Brudzynski K, Abubaker K, Laurent M, Castle A. Re-Examining the Role of Hydrogen Peroxide in Bacteriostatic and Bactericidal Activities of Honey. *Front Microbiol* [Internet]. 2011 [cité 20 mai 2019];2. Disponible sur: <http://journal.frontiersin.org/article/10.3389/fmicb.2011.00213/abstract>
50. Mavric E, Wittmann S, Barth G, Henle T. Identification and quantification of methylglyoxal as the dominant antibacterial constituent of Manuka (*Leptospermum scoparium*) honeys from New Zealand. *Mol Nutr Food Res* [Internet]. avr 2008 [cité 20 mai 2019];52(4):483-9. Disponible sur: <http://doi.wiley.com/10.1002/mnfr.200700282>
51. Kwakman PHS, te Velde AA, de Boer L, Vandenbroucke-Grauls CMJE, Zaat SAJ. Two Major Medicinal Honeys Have Different Mechanisms of Bactericidal Activity. Cardona P-J, éditeur. *PLoS ONE* [Internet]. 4 mars 2011 [cité 20 mai 2019];6(3):e17709. Disponible sur: <https://dx.plos.org/10.1371/journal.pone.0017709>
52. Les ingrédients actifs du miel [Internet]. Melibiotech. [cité 20 mai 2019]. Disponible sur: [http://www.melibiotech.com/Les-ingredients-actifs-miel\\_12.html](http://www.melibiotech.com/Les-ingredients-actifs-miel_12.html)
53. Kwakman PHS, Zaat SAJ. Antibacterial components of honey. *IUBMB Life* [Internet]. janv 2012 [cité 20 mai 2019];64(1):48-55. Disponible sur: <http://doi.wiley.com/10.1002/iub.578>
54. Majtan J, Kludiny J, Bohova J, Kohutova L, Dzurova M, Sediva M, et al. Methylglyoxal-induced modifications of significant honeybee proteinous components in manuka honey: Possible therapeutic implications. *Fitoterapia* [Internet]. juin 2012 [cité 20 mai 2019];83(4):671-7. Disponible sur: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0367326X12000512>
55. Brudzynski K, Sjaarda C, Lannigan R. MRJP1-containing glycoproteins isolated from honey, a novel antibacterial drug candidate with broad spectrum activity against multi-drug resistant clinical isolates. *Front Microbiol* [Internet]. 13 juill 2015 [cité 20 mai 2019];6. Disponible sur: <http://journal.frontiersin.org/Article/10.3389/fmicb.2015.00711/abstract>
56. Molan P. Pdf 10: The anti-inflammatory activity of honey. [cité 20 mai 2019]; Disponible sur: [https://www.academia.edu/2187703/Pdf\\_10\\_The\\_anti-inflammatory\\_activity\\_of\\_honey](https://www.academia.edu/2187703/Pdf_10_The_anti-inflammatory_activity_of_honey)
57. Candiracci M, Citterio B, Diamantini G, Blasa M, Accorsi A, Piatti E. Honey

- Flavonoids, Natural Antifungal Agents Against *Candida Albicans*. Int J Food Prop [Internet]. juill 2011 [cité 20 mai 2019];14(4):799-808. Disponible sur: <http://www.tandfonline.com/doi/abs/10.1080/10942910903453355>
58. Descottes B. Cicatrisation par le miel, l'expérience de 25 années. Phytothérapie [Internet]. avr 2009 [cité 20 mai 2019];7(2):112-6. Disponible sur: <http://link.springer.com/10.1007/s10298-009-0378-7>
59. Bodereau - RECEPTEURS NICOTINIQUES NEURONAUX D'INSECTES ET IN.pdf [Internet]. [cité 14 mai 2019]. Disponible sur: <https://tel.archives-ouvertes.fr/tel-00679695/document>
60. Simon-Delso N, Amaral-Rogers V, Belzunces LP, Bonmatin JM, Chagnon M, Downs C, et al. Systemic insecticides (neonicotinoids and fipronil): trends, uses, mode of action and metabolites. Environ Sci Pollut Res [Internet]. janv 2015 [cité 14 mai 2019];22(1):5-34. Disponible sur: <http://link.springer.com/10.1007/s11356-014-3470-y>
61. Hladik ML, Main AR, Goulson D. Environmental Risks and Challenges Associated with Neonicotinoid Insecticides. Environ Sci Technol [Internet]. 20 mars 2018 [cité 14 mai 2019];52(6):3329-35. Disponible sur: <http://pubs.acs.org/doi/10.1021/acs.est.7b06388>
62. Bodereau - RECEPTEURS NICOTINIQUES NEURONAUX D'INSECTES ET IN.pdf [Internet]. [cité 14 mai 2019]. Disponible sur: <https://tel.archives-ouvertes.fr/tel-00679695/document>
63. Bodereau - RECEPTEURS NICOTINIQUES NEURONAUX D'INSECTES ET IN.pdf [Internet]. [cité 14 mai 2019]. Disponible sur: <https://tel.archives-ouvertes.fr/tel-00679695/document>
64. Shao X, Xia S, Durkin KA, Casida JE. Insect nicotinic receptor interactions in vivo with neonicotinoid, organophosphorus, and methylcarbamate insecticides and a synergist. Proc Natl Acad Sci [Internet]. 22 oct 2013 [cité 8 oct 2019];110(43):17273-7. Disponible sur: <http://www.pnas.org/cgi/doi/10.1073/pnas.1316369110>
65. Casida JE. Neonicotinoids and Other Insect Nicotinic Receptor Competitive Modulators: Progress and Prospects. Annu Rev Entomol [Internet]. 7 janv 2018 [cité 8 oct 2019];63(1):125-44. Disponible sur: <http://www.annualreviews.org/doi/10.1146/annurev-ento-020117-043042>
66. Millar NS, Denholm I. Nicotinic acetylcholine receptors: targets for commercially important insecticides. Invert Neurosci [Internet]. 20 févr 2007 [cité 14 mai 2019];7(1):53-66. Disponible sur: <http://link.springer.com/10.1007/s10158-006-0040-0>
67. Règlement d'exécution (UE) n° 485/2013 de la Commission du 24 mai 2013 modifiant le règlement d'exécution (UE) n° 540/2011 en ce qui concerne les conditions d'approbation des substances actives clothianidine, thiaméthoxame et imidaclopride et interdisant l'utilisation et la vente de semences traitées avec des produits phytopharmaceutiques contenant ces substances actives Texte présentant de l'intérêt pour l'EEE [Internet]. OJ L, 32013R0485 mai 25, 2013. Disponible sur: [http://data.europa.eu/eli/reg\\_impl/2013/485/oj/fra](http://data.europa.eu/eli/reg_impl/2013/485/oj/fra)
68. LOI n° 2016-1087 du 8 août 2016 pour la reconquête de la biodiversité, de la nature et des paysages (1) - Article 125 | Legifrance [Internet]. [cité 14 mai 2019]. Disponible sur: [https://www.legifrance.gouv.fr/eli/loi/2016/8/8/2016-1087/jo/article\\_125](https://www.legifrance.gouv.fr/eli/loi/2016/8/8/2016-1087/jo/article_125)
69. 180228-QA-Neonics.pdf [Internet]. [cité 14 mai 2019]. Disponible sur: <http://www.efsa.europa.eu/sites/default/files/news/180228-QA-Neonics.pdf>
70. Mitchell EAD, Mulhauser B, Mulot M, Mutabazi A, Glauser G, Aebi A. A worldwide survey of neonicotinoids in honey. Science [Internet]. 6 oct 2017 [cité 20 mai 2019];358(6359):109-11. Disponible sur:

<http://www.sciencemag.org/lookup/doi/10.1126/science.aan3684>

71. Jones A, Turnbull G. Neonicotinoid concentrations in UK honey from 2013: Neonicotinoid concentrations in UK honey. *Pest Manag Sci* [Internet]. oct 2016 [cité 21 mai 2019];72(10):1897-900. Disponible sur: <http://doi.wiley.com/10.1002/ps.4227>
  72. Mitchell EAD, Mulhauser B, Mulot M, Mutabazi A, Glauser G, Aebi A. A worldwide survey of neonicotinoids in honey. *Science* [Internet]. 6 oct 2017 [cité 21 mai 2019];358(6359):109-11. Disponible sur: <http://www.sciencemag.org/lookup/doi/10.1126/science.aan3684>
  73. Pistorius J, Bischoff G, Heimbach U, Stähler M. Bee poisoning incidents in Germany in Spring 2008 caused by abrasion of active substance from treated seeds during sowing of maize. *Julius Kühn Arch.* 30 nov 2008;423.
  74. Janke M, Rosenkranz P. Periodical honey bee colony losses in Germany: preliminary results from a four years monitoring project. In 2010.
  75. Genersch E, Von Der OHE W, Kaatz H, Schroeder A, Otten C, Buechler R, et al. The German bee monitoring project: a long term study to understand periodically high winter losses of honey bee colonies. *Apidologie* [Internet]. 2010 [cité 24 sept 2019];41(3). Disponible sur: <https://hal.archives-ouvertes.fr/hal-00892101>
  76. Lambert O, Piroux M, Puyo S, Thorin C, L'Hostis M, Wiest L, et al. Widespread Occurrence of Chemical Residues in Beehive Matrices from Apiaries Located in Different Landscapes of Western France. Desneux N, éditeur. *PLoS ONE* [Internet]. 17 juin 2013 [cité 24 sept 2019];8(6):e67007. Disponible sur: <https://dx.plos.org/10.1371/journal.pone.0067007>
  77. Pilling E, Campbell P, Coulson M, Ruddle N, Tornier I. A Four-Year Field Program Investigating Long-Term Effects of Repeated Exposure of Honey Bee Colonies to Flowering Crops Treated with Thiamethoxam. vanEngelsdorp D, éditeur. *PLoS ONE* [Internet]. 23 oct 2013 [cité 24 sept 2019];8(10):e77193. Disponible sur: <https://dx.plos.org/10.1371/journal.pone.0077193>
  78. Schmuck R, Schöning R, Stork A, Schramel O. Risk posed to honeybees (*Apis mellifera* L, Hymenoptera) by an imidacloprid seed dressing of sunflowers: Risk to honeybees by an imidacloprid seed dressing. *Pest Manag Sci* [Internet]. mars 2001 [cité 24 sept 2019];57(3):225-38. Disponible sur: <http://doi.wiley.com/10.1002/ps.270>
  79. Kasiotis KM, Anagnostopoulos C, Anastasiadou P, Machera K. Pesticide residues in honeybees, honey and bee pollen by LC-MS/MS screening: Reported death incidents in honeybees. *Sci Total Environ* [Internet]. juill 2014 [cité 24 sept 2019];485-486:633-42. Disponible sur: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0048969714003726>
- w
81. Pohorecka K, Skubida P, Mischczak A, Semkiw P, Sikorski P, Zagibajło K, et al. Residues of Neonicotinoid Insecticides in Bee Collected Plant Materials from Oilseed Rape Crops and their Effect on Bee Colonies. *J Apic Sci* [Internet]. 1 déc 2012 [cité 24 sept 2019];56(2):115-34. Disponible sur: <http://content.sciendo.com/view/journals/jas/56/2/article-p115.xml>
  82. Blacquièrre T, Smagghe G, van Gestel CAM, Mommaerts V. Neonicotinoids in bees: a review on concentrations, side-effects and risk assessment. *Ecotoxicology* [Internet]. mai 2012 [cité 24 sept 2019];21(4):973-92. Disponible sur: <http://link.springer.com/10.1007/s10646-012-0863-x>
  83. Cutler GC, Scott-Dupree CD. Exposure to clothianidin seed-treated canola has no long-term impact on honey bees. *J Econ Entomol.* juin 2007;100(3):765-72.
  84. Cutler GC, Scott-Dupree CD, Sultan M, McFarlane AD, Brewer L. A large-scale field study examining effects of exposure to clothianidin seed-treated canola on honey bee colony

health, development, and overwintering success. PeerJ [Internet]. 30 oct 2014 [cité 24 sept 2019];2:e652. Disponible sur: <https://peerj.com/articles/652>

85. Taira K, Fujioka K, Aoyama Y. Qualitative Profiling and Quantification of Neonicotinoid Metabolites in Human Urine by Liquid Chromatography Coupled with Mass Spectrometry. Sakamoto KQ, éditeur. PLoS ONE [Internet]. 12 nov 2013 [cité 24 sept 2019];8(11):e80332. Disponible sur: <https://dx.plos.org/10.1371/journal.pone.0080332>

86. Ueyama J, Nomura H, Kondo T, Saito I, Ito Y, Osaka A, et al. Biological Monitoring Method for Urinary Neonicotinoid Insecticides Using LC-MS/MS and Its Application to Japanese Adults. J Occup Health [Internet]. nov 2014 [cité 24 sept 2019];56(6):461-8. Disponible sur: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1539/joh.14-0077-OA>

## Annexes

---

Annexe 1 : Règlement d'exécution du 24 mai 2013.....	101
Annexe 2 : Decret n°2018-675 du 30 juillet 2018.....	104
Annexe 3 : Interdiction des néonicotinoïdes le 1 <sup>er</sup> septembre 2018 .....	106
Annexe 4 : Charte des Bonnes Pratiques Apicoles du RER.....	108
Annexe 5 : Nom des 320 pesticides différents recherchés .....	121
Annexe 6 : Certificat d'analyse des miels .....	124

# Annexe 1 : Règlement d'exécution du 24 mai 2013

## RÈGLEMENT D'EXÉCUTION (UE) N° 485/2013 DE LA COMMISSION du 24 mai 2013

**modifiant le règlement d'exécution (UE) n° 540/2011 en ce qui concerne les conditions d'approbation des substances actives clothianidine, thiaméthoxame et imidaclopride et interdisant l'utilisation et la vente de semences traitées avec des produits phytopharmaceutiques contenant ces substances actives**

(Texte présentant de l'intérêt pour l'EEE)

LA COMMISSION EUROPÉENNE,

vu le traité sur le fonctionnement de l'Union européenne,

vu le règlement (CE) n° 1107/2009 du Parlement européen et du Conseil du 21 octobre 2009 concernant la mise sur le marché des produits phytopharmaceutiques et abrogeant les directives 79/117/CEE et 91/414/CEE du Conseil <sup>(1)</sup>, et notamment le premier cas de figure visé à son article 21, paragraphe 3, son article 49, paragraphe 2, et son article 78, paragraphe 2,

considérant ce qui suit:

- (1) Les substances actives clothianidine, thiaméthoxame et imidaclopride ont été inscrites à l'annexe I de la directive 91/414/CEE du Conseil du 15 juillet 1991 concernant la mise sur le marché des produits phytopharmaceutiques <sup>(2)</sup> respectivement par les directives de la Commission 2006/41/CE <sup>(3)</sup>, 2007/6/CE <sup>(4)</sup> et 2008/116/CE <sup>(5)</sup>.
- (2) La directive 2010/21/UE de la Commission <sup>(6)</sup> a modifié l'annexe I de la directive 91/414/CEE pour ce qui est des dispositions spécifiques relatives aux néonicotinoïdes clothianidine, thiaméthoxame et imidaclopride.
- (3) Les substances actives inscrites à l'annexe I de la directive 91/414/CEE sont réputées approuvées en vertu du règlement (CE) n° 1107/2009 et sont énumérées dans la partie A de l'annexe du règlement d'exécution (UE) n° 540/2011 de la Commission du 25 mai 2011 portant application du règlement (CE) n° 1107/2009 du Parlement européen et du Conseil, en ce qui concerne la liste des substances actives approuvées <sup>(7)</sup>.
- (4) Au printemps 2012, de nouvelles informations scientifiques relatives aux effets sublétaux des néonicotinoïdes sur les abeilles ont été publiées. La Commission, conformément à l'article 21, paragraphe 2, du règlement (CE) n° 1107/2009, a demandé à l'Autorité européenne de sécurité des aliments (ci-après l'«Autorité») une assistance scientifique et technique pour examiner ces nouvelles informations et revoir l'évaluation des risques des néonicotinoïdes en ce qui concerne leur incidence sur les abeilles.

- (5) L'Autorité a présenté ses conclusions sur l'évaluation des risques de la clothianidine, du thiaméthoxame et de l'imidaclopride pour les abeilles le 16 janvier 2013 <sup>(8)</sup>.
- (6) L'Autorité a constaté que certaines cultures présentaient des risques aigus élevés pour les abeilles en raison de l'utilisation de produits phytopharmaceutiques contenant les substances actives clothianidine, thiaméthoxame ou imidaclopride. L'Autorité a constaté, notamment, des risques aigus élevés pour les abeilles liés à l'exposition aux poussières émanant de plusieurs cultures, à la consommation de résidus présents dans le pollen et le nectar contaminés de certaines cultures et à l'exposition à la guttation du maïs. L'Autorité n'exclut pas non plus des risques inacceptables résultant des effets aigus ou chroniques sur la survie et le développement des colonies dans plusieurs cultures. En outre, l'Autorité a relevé un certain nombre de données lacunaires pour chacune des cultures évaluées, en particulier en ce qui concerne le risque à long terme pour les abeilles mellifères résultant de l'exposition aux poussières, des résidus présents dans le pollen et le nectar et de l'exposition à la guttation.
- (7) À la lumière de ces nouvelles connaissances scientifiques et techniques, la Commission a jugé qu'il existait des éléments indiquant que les utilisations approuvées de la clothianidine, du thiaméthoxame et de l'imidaclopride ne satisfaisaient plus aux critères d'approbation prévus à l'article 4 du règlement (CE) n° 1107/2009, compte tenu de leur incidence sur les abeilles, et qu'on ne pouvait exclure un risque élevé pour les abeilles à moins d'imposer de nouvelles restrictions. De plus, dans l'attente de l'évaluation de l'Autorité concernant les utilisations par traitement foliaire, la Commission a estimé que le risque pour les abeilles découlant des applications foliaires était semblable au risque observé par l'Autorité en cas de traitement des semences et de traitement des sols, en raison de la translocation systémique des substances actives clothianidine, thiaméthoxame et imidaclopride dans la plante.
- (8) La Commission a invité les auteurs des notifications à présenter leurs observations.

<sup>(8)</sup> Autorité européenne de sécurité des aliments: «Conclusion on the peer review of the pesticide risk assessment for bees for the active substance clothianidin», *EFSA Journal* 2013; 11(1):3066 [58 p.], doi:10.2903/j.efsa.2013.3066;

«Conclusion on the peer review of the pesticide risk assessment for bees for the active substance imidacloprid», *EFSA Journal* 2013; 11(1):3068 [55 pp.], doi:10.2903/j.efsa.2013.3068

«Conclusion on the peer review of the pesticide risk assessment for bees for the active substance thiamethoxam», *EFSA Journal* 2013; 11(1):3067 [68 pp.], doi:10.2903/j.efsa.2013.3067. Disponibles en ligne à l'adresse: [www.efsa.europa.eu/efsajournal.htm](http://www.efsa.europa.eu/efsajournal.htm).

<sup>(1)</sup> JO L 309 du 24.11.2009, p. 1.

<sup>(2)</sup> JO L 230 du 19.8.1991, p. 1.

<sup>(3)</sup> JO L 187 du 8.7.2006, p. 24.

<sup>(4)</sup> JO L 43 du 15.2.2007, p. 13.

<sup>(5)</sup> JO L 337 du 16.12.2008, p. 86.

<sup>(6)</sup> JO L 65 du 13.3.2010, p. 27.

<sup>(7)</sup> JO L 153 du 11.6.2011, p. 1.

- (9) Les conclusions de l'Autorité ont été examinées par les États membres et la Commission au sein du comité permanent de la chaîne alimentaire et de la santé animale et finalisées le 15 mars 2013 sous forme d'addenda aux rapports de réexamen de la clothianidine, du thiaméthoxame et de l'imidaclopride.
- (10) La Commission est arrivée à la conclusion qu'un risque élevé pour les abeilles ne pouvait être exclu à moins d'imposer de nouvelles restrictions.
- (11) Il est confirmé que les substances actives clothianidine, thiaméthoxame et imidaclopride sont réputées approuvées en vertu du règlement (CE) n° 1107/2009. Afin de réduire au minimum l'exposition des abeilles, il convient toutefois de limiter l'utilisation de ces substances actives, de prévoir des mesures spécifiques d'atténuation des risques pour protéger les abeilles et de réserver l'utilisation de produits phytopharmaceutiques contenant ces substances actives aux utilisateurs professionnels. En particulier, l'utilisation de produits phytopharmaceutiques contenant de la clothianidine, du thiaméthoxame ou de l'imidaclopride à des fins de traitement des semences et de traitement des sols devrait être interdite dans les cultures qui attirent les abeilles et dans les céréales, sauf dans les cultures sous serre et dans les céréales d'hiver. Les traitements foliaires à l'aide de produits phytopharmaceutiques contenant de la clothianidine, du thiaméthoxame ou de l'imidaclopride devraient être interdits dans les cultures qui attirent les abeilles et dans les céréales, à l'exception des utilisations sous serre et des utilisations après la floraison. Les cultures qui sont récoltées avant la floraison ne sont pas censées attirer les abeilles.
- (12) Concernant les utilisations de clothianidine, de thiaméthoxame ou d'imidaclopride qui peuvent être autorisées par le présent règlement, il convient de demander des informations confirmatives supplémentaires.
- (13) Il convient dès lors de modifier le règlement d'exécution (UE) n° 540/2011 en conséquence.
- (14) Il a été constaté que les risques pour les abeilles provenant des semences traitées sont dus en particulier à l'exposition aux poussières émanant de plusieurs cultures, à la consommation de résidus présents dans le pollen et le nectar contaminés de certaines cultures et à l'exposition à la guttation du maïs. Compte tenu de ces risques liés à l'utilisation de semences traitées, l'utilisation et la mise sur le marché de semences traitées avec des produits phytopharmaceutiques contenant de la clothianidine, du thiaméthoxame ou de l'imidaclopride devraient être interdites en ce qui concerne les semences de cultures qui attirent les abeilles et les semences de céréales, à l'exception des céréales d'hiver et des semences utilisées sous serre.
- (15) Il convient de laisser aux États membres le temps de retirer les autorisations des produits phytopharmaceutiques contenant de la clothianidine, du thiaméthoxame ou de l'imidaclopride.
- (16) S'agissant des produits phytopharmaceutiques contenant de la clothianidine, du thiaméthoxame ou de l'imidaclopride, si des États membres accordent un délai de grâce conformément à l'article 46 du règlement (CE) n° 1107/2009, ce délai doit expirer au plus tard le 30 novembre 2013. Dans les deux ans à compter de la date d'entrée en vigueur du présent règlement, la Commission entamera dans un délai raisonnable un examen des nouvelles informations scientifiques qu'elle aura reçues.
- (17) L'article 36, paragraphe 3, du règlement (CE) n° 1107/2009 prévoit que les États membres peuvent, dans certaines circonstances, imposer des mesures supplémentaires d'atténuation des risques ou des restrictions à la mise sur le marché et à l'utilisation de produits phytopharmaceutiques contenant de la clothianidine, du thiaméthoxame ou de l'imidaclopride. En ce qui concerne la mise sur le marché et l'utilisation de semences traitées à l'aide de produits phytopharmaceutiques contenant de la clothianidine, du thiaméthoxame ou de l'imidaclopride, le règlement (CE) n° 1107/2009 prévoit la possibilité, pour les États membres, de prendre des mesures d'urgence en application de son article 71.
- (18) L'interdiction de la mise sur le marché de semences traitées ne devrait s'appliquer qu'à partir du 1<sup>er</sup> décembre 2013 afin de garantir une période de transition suffisamment longue. Les mesures provisoires de protection déjà prises au niveau national en vertu de l'article 71 du règlement (CE) n° 1107/2009 peuvent être maintenues jusqu'à cette date conformément à l'article 71, paragraphe 3, dudit règlement.
- (19) Les semences traitées avec des produits phytopharmaceutiques contenant de la clothianidine, du thiaméthoxame ou de l'imidaclopride, qui sont soumises aux restrictions visées à l'article 1<sup>er</sup> du présent règlement, peuvent être utilisées pour des expériences ou des essais à des fins de recherche ou de développement en vertu de l'article 54 du règlement (CE) n° 1107/2009.
- (20) Le comité permanent de la chaîne alimentaire et de la santé animale n'a pas émis d'avis. Un acte d'exécution a été jugé nécessaire et le président a soumis le projet d'acte d'exécution au comité d'appel, pour de plus amples délibérations. Le comité d'appel n'a pas émis d'avis.

A ADOPTÉ LE PRÉSENT RÈGLEMENT:

*Article premier*

**Modification du règlement d'exécution (UE) n° 540/2011**

L'annexe du règlement d'exécution (UE) n° 540/2011 est modifiée conformément à l'annexe I du présent règlement.

*Article 2*

**Interdiction de mise sur le marché de semences traitées**

Les semences des cultures énumérées à l'annexe II qui ont été traitées avec des produits phytopharmaceutiques contenant de la clothianidine, du thiaméthoxame ou de l'imidaclopride ne sont plus utilisées ni placées sur le marché, à l'exception des semences utilisées sous serre.

*Article 3***Mesures transitoires**

S'il y a lieu, les États membres modifient ou retirent, conformément au règlement (CE) n° 1107/2009, les autorisations existantes de produits phytopharmaceutiques contenant de la clothianidine, du thiaméthoxame ou de l'imidaclopride en tant que substances actives, pour le 30 septembre 2013.

*Article 4***Délai de grâce**

Tout délai de grâce accordé par un État membre conformément à l'article 46 du règlement (CE) n° 1107/2009 est le plus court possible et expire au plus tard le 30 novembre 2013.

*Article 5***Entrée en vigueur**

Le présent règlement entre en vigueur le jour suivant celui de sa publication au *Journal officiel de l'Union européenne* et est applicable à partir de cette date.

Toutefois, l'article 2 est applicable à partir du 1<sup>er</sup> décembre 2013.

Le présent règlement est obligatoire dans tous ses éléments et directement applicable dans tout État membre.

Fait à Bruxelles, le 24 mai 2013.

*Par la Commission*  
*Le président*  
José Manuel BARROSO

## Décrets, arrêtés, circulaires

### TEXTES GÉNÉRAUX

#### MINISTÈRE DE LA TRANSITION ÉCOLOGIQUE ET SOLIDAIRE

**Décret n° 2018-675 du 30 juillet 2018 relatif à la définition des substances actives de la famille des néonicotinoïdes présentes dans les produits phytopharmaceutiques**

NOR : TREP1705062D

***Publics concernés :** fabricants de substances actives phytopharmaceutiques ; producteurs et utilisateurs de produits phytopharmaceutiques et de semences traitées avec de tels produits.*

***Objet :** produits phytopharmaceutiques et semences traitées avec de tels produits.*

***Entrée en vigueur :** le texte entre en vigueur le lendemain de sa publication.*

***Notice :** le décret fixe la liste des substances actives de la famille des néonicotinoïdes dont l'usage dans des produits phytopharmaceutiques ou pour le traitement des semences entraîne l'interdiction de l'utilisation de ces derniers.*

***Références :** le décret est pris pour l'application de l'article L. 253-8 du code rural et de la pêche maritime. Il peut être consulté sur le site Légifrance (<http://www.legifrance.gouv.fr>).*

Le Premier ministre,

Sur le rapport du ministre d'Etat, ministre de la transition écologique et solidaire,

Vu le règlement (CE) n° 1107/2009 du Parlement européen et du Conseil du 21 octobre 2009 concernant la mise sur le marché des produits phytopharmaceutiques et abrogeant les directives 79/117/CEE et 91/414/CEE du Conseil ;

Vu la directive 2009/128/CE du Parlement Européen et du Conseil du 21 octobre 2009 instaurant un cadre d'action communautaire pour parvenir à une utilisation durable des pesticides compatible avec le développement durable ;

Vu la directive (UE) 2015/1535 du Parlement européen et du Conseil du 9 septembre 2015 prévoyant une procédure d'information dans le domaine des réglementations techniques et des règles relatives aux services de la société de l'information, ensemble la notification n° 2017/39/F du 2 février 2017 ;

Vu le code rural et de la pêche maritime, notamment son article L. 253-8,

Décète :

**Art. 1<sup>er</sup>.** – La section 6 du chapitre III du titre V du livre II de la partie réglementaire du code rural et de la pêche maritime est ainsi modifiée :

1° L'article D. 253-46-1 devient l'article D. 253-46-1-1 ;

2° Il est rétabli un article D. 253-46-1 ainsi rédigé :

« *Art. D. 253-46-1.* – Les substances de la famille des néonicotinoïdes mentionnées à l'article L. 253-8 sont les suivantes :

« – Acétamipride ;

« – Clothianidine ;

« – Imidaclopride ;

« – Thiaclopride ;

« – Thiaméthoxame. »

**Art. 2.** – Le ministre d'Etat, ministre de la transition écologique et solidaire, la ministre des solidarités et de la santé et le ministre de l'agriculture et de l'alimentation sont chargés, chacun en ce qui le concerne, de l'exécution du présent décret, qui sera publié au *Journal officiel* de la République française.

Fait le 30 juillet 2018.

EDOUARD PHILIPPE

Par le Premier ministre :

*Le ministre d'Etat,  
ministre de la transition écologique  
et solidaire,*  
NICOLAS HULOT

*Le ministre de l'agriculture  
et de l'alimentation,*  
STÉPHANE TRAVERT

*La ministre des solidarités  
et de la santé,*  
AGNÈS BUZYN

## Annexe 3 : Interdiction des néonicotinoïdes le 1<sup>er</sup> septembre 2018

---



**Agnès Buzyn**  
Ministre des Solidarités  
et de la Santé

**Stéphane Travert**  
Ministre de l'Agriculture  
et de l'Alimentation

**Brune Poirson**  
Secrétaire d'État auprès du  
ministre d'État, ministre de la  
Transition écologique et  
solidaire

Paris, le vendredi 31 août 2018

### Communiqué de presse

---

#### Entrée en vigueur de l'interdiction des néonicotinoïdes le 1<sup>er</sup> septembre

**L'utilisation de produits phytopharmaceutiques contenant des néonicotinoïdes est interdite en France à compter de ce samedi 1<sup>er</sup> septembre. La France se positionne plus que jamais en pointe pour l'interdiction des produits phytopharmaceutiques dangereux pour les pollinisateurs.**

5 substances insecticides néonicotinoïdes, ayant des effets particulièrement nocifs sur l'environnement (notamment sur les pollinisateurs), sont désormais interdites d'utilisation en France.

Cette interdiction a placé notre pays comme précurseur sur la protection des pollinisateurs. Sous l'impulsion de la France, l'Union européenne a récemment adopté des restrictions d'usage pour 3 de ces substances, interdisant leur utilisation dans la plupart des situations.

Le Gouvernement souhaite aller encore plus loin dans la protection de la santé et de l'environnement et a inscrit, dans le projet de loi issu des États généraux de l'alimentation, l'interdiction prochaine de deux autres substances dont le mode d'action est identique à celui des substances de la famille des néonicotinoïdes. La mesure vient d'être notifiée à l'Union européenne.

Ces interdictions sont essentielles pour lutter contre le déclin massif des colonies d'abeilles et des pollinisateurs sauvages, constaté cet hiver.

Le Gouvernement rappelle qu'il a mis en place un plan ambitieux sur les pesticides avec une priorité donnée à l'élimination rapide des substances les plus préoccupantes, à la sortie du glyphosate et à la mise en œuvre de l'interdiction des néonicotinoïdes.

Dans de nombreuses situations, les produits contenant des néonicotinoïdes peuvent être remplacés par des solutions alternatives, telles que les produits de biocontrôle. Le Gouvernement entend accompagner les agriculteurs dans cette transition.

---

#### *Zoom technique :*

Les néonicotinoïdes sont une famille de substances employées dans des produits insecticides. Ces substances agissent sur le système nerveux central des insectes. En raison de leur toxicité sur les

pollinisateurs, mise en évidence par de nombreuses études, ces substances sont une des causes du déclin des colonies d'abeilles.

Les substances suivantes seront interdites à compter du 1<sup>er</sup> septembre 2018 : imidaclopride, clothianidine, thiaméthoxame, thiaclopride et acétamipride. L'Union européenne vient d'interdire, pour une majeure partie des usages, les 3 premières substances mentionnées.

Le projet de loi issu des Etats Généraux de l'Alimentation propose d'étendre cette interdiction aux substances ayant un mode d'action identique à celui des néonicotinoïdes. Sont concernées, aujourd'hui, le sulfoxaflor et le flupyradifurone.

---

Pour toute information complémentaire, contacts :

**Service presse de Mme Agnès Buzyn : 01 40 56 60 65**

**Service presse de M. Stéphane Travert : 01 49 55 59 74**

**Service presse de Mme Brune Poirson : 01 40 81 78 31**

**Charte qualité-miel :**  
**« Apiculteur du Rucher École de Rocamadour »**

## Sommaire :

<b>Préambule</b> .....	<i>page 3</i>
<b>1 - Objet de la charte</b> .....	<i>page 3</i>
<b>2 - Adhésion à la charte</b> .....	<i>page 3</i>
<b>3 - Caractéristiques des produits</b> .....	<i>page 4</i>
3-1 : Appellation	
3-2 : Définition	
3-3 : Qualité	
<b>4 - Obligations réglementaires des signataires</b> .....	<i>page 4</i>
<b>5 - Mise en œuvre de bonnes pratiques apicoles</b> .....	<i>page 5</i>
5-1 : Emplacements des ruches	
5-2 : Précautions environnementales	
5-3 : Conduite des ruches	
5-4 : Prophylaxie	
5-5 : Nourrissement des colonies	
5-6 : Récolte	
<b>6 - Extraction, conditionnement</b> .....	<i>page 7</i>
6-1 : Extraction, filtration, maturation, stockage intermédiaire	
6-2 : Conditionnement	
<b>7 - Modalités d'adhésion, engagements des bénéficiaires</b> .....	<i>page 7</i>
7-1 : Modalités d'adhésion	
7-2 : Engagements des bénéficiaires	
<b>8 - Mise à disposition des éléments d'étiquetage</b> .....	<i>page 8</i>
<b>9 - Promotion des produits marqués</b> .....	<i>page 8</i>
<b>10 - Contrôles, sanctions</b> .....	<i>page 8</i>
10-1 : Contrôles	
10-2 : Sanctions	
10-2-1 : Suspension pour motifs d'insuffisance	
10-2-2 : Suspension pour motifs graves	
<b>11 - Commission de la charte</b> .....	<i>page 9</i>
<b>12 - Validité de la charte</b> .....	<i>page 9</i>

### Annexes

*Annexe I : Engagement d'adhésion à la charte qualité-miel « Apiculteur du Rucher École de Rocamadour »*

*Annexe II : Convention d'utilisation individuelle de la marque « Apiculteur du Rucher de Rocamadour »*

*Annexe III : Liste des différents produits autorisés par la charte.*

## Préambule

Implanté dans le Parc Naturel des Causses du Quercy, le RUCHER ECOLE DE ROCAMADOUR, qui forme depuis 30 ans des apiculteurs, a souhaité engager un processus de marquage des miels produits et récoltés par ses adhérents.

Grâce à l'apiculture de qualité pratiquée par ceux-ci, ces miels représentent et valorisent une flore locale riche et variée.

Par leur rôle pollinisateur, indispensable à la reproduction d'un grand nombre d'espèces végétales, les abeilles participent en retour au maintien de cette biodiversité.

Dans l'objectif de faire découvrir ce produit local spécifique, fortement lié aux enjeux de biodiversité et de respect de l'environnement, le Rucher École de Rocamadour, à travers ses apiculteurs adhérents souhaite :

- Valoriser les miels produits par ceux-ci.
- Les identifier en tant que produits spécifiques, récoltés et mis en pot par les apiculteurs du Rucher École de Rocamadour.
- Garantir des miels répondant à des critères de qualité.
- Certifier le respect de bonnes pratiques apicoles, respectueuses de l'abeille et de son environnement.

## 1 - Objet de la charte

La présente charte fixe et garantit la qualité des miels produits par des adhérents du Rucher École de Rocamadour.

Elle définit les règles et conditions leur permettant l'obtention et l'utilisation de la marque « Apiculteur du Rucher École de Rocamadour »

Notamment :

- Les caractéristiques du produit.
- Les obligations réglementaires.
- Les règles des bonnes pratiques apicoles.
- Les prescriptions d'extraction et de conditionnement des miels.
- Les modalités d'adhésion et les engagements.
- La mise à disposition des moyens d'identification.
- Les procédures de contrôle et les sanctions.

## 2 - Adhésion à la charte

L'adhésion à la charte est basée sur le principe de l'engagement volontaire de l'apiculteur à respecter l'intégralité des obligations de celle-ci.

Celui-ci s'engage moralement aussi bien vis à vis du Rucher École de Rocamadour, promoteur de cette charte, que vis à vis du consommateur.

Elle fait l'objet d'un engagement écrit de la part de l'apiculteur signataire ([annexe I](#))

---

*Charte qualité-miel - « Apiculteur du Rucher École de Rocamadour »  
Version V4.1, modifiée et approuvée par le CA du RER en date du 25/08/18*

*Page 3 sur 13*

### 3 - Caractéristiques du produit.

#### 3-1 : Appellation

##### • Miel ou Miel de fleurs

Pouvant être accompagnée, sous la responsabilité de l'apiculteur, d'une mention « toutes fleurs », « de printemps », « d'été » ou de toutes autres spécificités monoflorales conformes.

#### 3-2 : Définition du produit

Le miel est une substance sucrée naturelle produite par les abeilles de l'espèce *Apis mellifera* à partir du nectar de plantes ou des sécrétions provenant de parties vivantes des plantes ou des excréments laissés sur celles-ci par des insectes suceurs, qu'elles butinent, transforment en les combinant avec des matières spécifiques propres, déposent, déshydratent, entreposent et laissent mûrir dans les rayons de la ruche.

#### 3-3 : Qualité

En raison de la grande diversité de la flore, les miels peuvent varier d'une année sur l'autre dans leurs aspects et leur goûts, selon les prépondérances des miellées.

Cet aliment, qui peut être fluide, épais ou cristallisé ne doit pas présenter de défauts tels que :

- Odeurs parasites communiquées accidentellement au miel ou résultat d'une dégradation naturelle du produit.
- Goûts défectueux étranger à la variété du miel.
- Coloration anormale.

Dans tous les cas, le miel devra être conforme au décret n°2003-587 du 30 juin 2003 pris pour l'application de l'article L. 214-1 du code de la consommation en ce qui concerne cet aliment.

### 4 - Obligations réglementaires des signataires

Pour obtenir le droit d'utiliser ou de faire référence à la marque « Apiculteur du Rucher École de Rocamadour », le signataire devra obligatoirement :

- Être adhérent du Rucher École de Rocamadour et à jour de sa cotisation en cours.
- Avoir effectué sa déclaration annuelle de ruches.
- Tenir un registre d'élevage conformément à l'article L234-1 du code rural et de la pêche maritime, à l'arrêté du 05 Juin 2000 et plus particulièrement à son article 12, paragraphe 2.
- Détenir un numéro SIRET dans le cas où il commercialise du miel ou le cède à titre gracieux en dehors du cercle familial.
- Être à jour de ses obligations fiscales relevant de son activité d'apiculteur.

## 5 - Mise en œuvre de bonnes pratiques apicoles

La mise en œuvre de bonnes pratiques apicoles a pour objectif de préserver la santé des colonies et d'assurer la sécurité sanitaire du consommateur.

### 5-1 : Emplacements des ruches

Les ruches doivent être situées dans un endroit sec, aéré, ensoleillé et convenablement isolé de l'humidité du sol.

### 5-2 : Précautions environnementales

La flore mellifère doit être préservée de tout traitement phytosanitaire qui pourrait porter préjudice aux butineuses. En conséquence, l'apiculteur choisira l'emplacement de ses ruches de façon à éviter le butinage sur les cultures recevant des pesticides.

Le désherbage chimique est interdit autour des ruches.

Les ruches sont constituées de matériaux naturels ou neutres, ne présentant aucun risque de contamination sur l'environnement et les produits issus de la ruche.

La protection extérieure des ruches à base de carbonyle ou de tout autre produit présentant un risque environnemental est interdite.

### 5-3 : Conduite des ruches

Une ruche se compose de deux parties :

- Le corps de ruche réservé à l'habitat et aux provisions des abeilles.
- Les hausses destinées à la récolte du miel.

Ce double espace garantit la pratique d'une apiculture raisonnée et l'excellence des miels produits.

Les techniques employées sont douces et manuelles, dans le respect de l'abeille et du milieu naturel.

Les visites de printemps et d'automne doivent être effectuées.

Chaque année, au moins deux cadres seront renouvelés dans le corps des ruches et les plateaux nettoyés.

Les cires introduites doivent impérativement provenir de la fonte des opercules.

Toutes les techniques, permettant aux abeilles la construction de leurs rayons sans apport extérieur, sont vivement encouragées.

Des visites régulières permettront de contrôler l'état sanitaire des ruches.

### 5-4 : Prophylaxie

D'une manière générale, il ne faut intervenir qu'en cas de nécessité absolue.

Il est donc préconisé de développer des pratiques d'élevage participant à maintenir un état de bonne santé des colonies.

L'ensemble du matériel, y compris le petit matériel apicole, doit être régulièrement nettoyé et désinfecté.

Les ruches malades doivent être mises en quarantaine ou détruites si nécessaire, après consultation du technicien sanitaire apicole départemental.

Les traitements contre le varroa devront être effectués aux moyens :

- De produits ayant reçu une autorisation de mise sur le marché (AMM) ou ayant fait l'objet d'une prescription vétérinaire extemporanée qui doit être justifiée par une ordonnance.
- De produits conformes au cahier de charges de l'agriculture biologique.
- De toutes autres techniques reconnues pour leur efficacité dans la lutte anti-varroa.

Les dates limites de traitement avant récolte du miel, les doses préconisées ainsi que les prescriptions d'application doivent être scrupuleusement respectées.

Chaque intervention sera consignée dans le registre d'élevage avec la date et le produit utilisé.

Sont interdits :

- L'usage d'antibiotiques.
- Tout traitement en présence des hausses.

#### 5-5 : Nourrissement des colonies

Le cycle biologique des abeilles impose que la conduite apicole permette aux abeilles d'accumuler suffisamment de réserves.

Le nourrissement des colonies doit être limité :

- A la période de mise en hivernage.
- Au début du printemps, hors périodes de miellées et de récoltes.

Toutefois, si des conditions climatiques exceptionnelles le justifient et pour préserver la survie des colonies, un nourrissement pourra s'effectuer uniquement après retrait complet des hausses.

Une attention particulière sera portée quant à la qualité et l'origine de ces succédanés.

#### 5-6 : Récolte

La récolte s'effectuera :

- Après s'être assuré du bon mûrissement du miel dans la ruche.
- Uniquement avec des cadres contenant au moins 80% de miel operculé.
- En excluant les cadres contenant du couvain.
- En utilisant des moyens naturels tels que balayage, brossage, chasse-abeilles ou soufflage.
- En veillant à enfumer modérément avec des combustibles organiques non polluants.

L'utilisation de répulsifs chimiques ou de produits de synthèse est interdite.

Pour éviter tout risque de souillure lors de la récolte et du transport, les hausses seront couvertes et maintenues isolées du sol.

---

*Charte qualité-miel - « Apiculteur du Rucher École de Rocamadour »*

*Version V4.1, modifiée et approuvée par le CA du RER en date du 25/08/18*

*Page 6 sur 13*

## **6 - Extraction, conditionnement**

### **6-1 : Extraction - Filtration - Maturation – Stockage intermédiaire**

L'extraction se fait par centrifugation, pressage ou égouttage dans un local propre et sec, sans odeur parasite et si possible réservé à cet effet.

En cas d'operculation incomplète, il est recommandé de procéder, de façon aléatoire sur plusieurs cadres, à un contrôle préalable au réfractomètre.

La filtration, la décantation et la maturation sont obligatoires mais ne doivent, en aucun cas, participer à la dégradation du miel. Les matériels de conditionnement intermédiaire et de stockage subissent les mêmes contraintes.

Tout le matériel d'extraction, de filtration, de maturation et de stockage doit être en acier inoxydable ou en plastique de qualité alimentaire.

Sont autorisés, dans la limite de prescription des valeurs de température ci-dessous définies :

- Le défigeage.
- La cristallisation dirigée par ensemencement.

Sont interdits :

- Tous les systèmes non réglables, susceptibles de provoquer le réchauffement de tout ou partie du miel extrait à une température supérieure à 40°C.
- L'ultrafiltration.

Le stockage intermédiaire doit se faire dans un local sain, sec, à l'abri des rayonnements lumineux et à une température inférieure à 20°C.

A l'issue des opérations décrites ci-dessus, la totalité du matériel sera soigneusement nettoyée et entreposée à l'abri des poussières.

### **6-2 : Conditionnement**

Le conditionnement pour la vente se fera uniquement en pots en verre.

Lors du remplissage, ils devront être propres et secs et ne pas avoir contenu d'autres denrées que du miel.

La mise en pot doit se faire sans aucun additif.

Les capsules, neuves, doivent fermer hermétiquement pour assurer une conservation optimale.

Le stockage s'effectuera dans un local sec, à l'abri de la lumière et à une température n'excédant pas 20°C.

## **7 - Modalités d'adhésion, engagements des bénéficiaires**

### **7-1 : Modalités d'adhésion**

L'apiculteur, adhérent du Rucher École de Rocamadour et en règle au regard de l'article 4 de la présente charte, manifeste par écrit sa volonté d'adhésion.

Une fois sa demande approuvée par la commission de la charte, placée sous la responsabilité du conseil d'administration du Rucher École de Rocamadour, il signe le document d'adhésion en annexe I.

#### 7-2 : Engagements des bénéficiaires

Le signataire de la présente charte s'engage :

- A ne vendre que du miel de sa propre production.
- A respecter intégralement la présente charte de qualité.
- A accepter les contrôles prévus à l'article 10-1 de la présente charte.
- A participer aux démarches collectives organisées dans le but de faire progresser la marque « Apiculteur du Rucher École de Rocamadour » et son impact.
- A proposer toutes les améliorations au bon fonctionnement de la présente charte.

#### 8 - Mise à disposition des éléments d'étiquetage

Le Rucher École de Rocamadour fournit au signataire de la charte les éléments nécessaires à l'étiquetage du produit faisant référence à la marque « Apiculteur du Rucher École de Rocamadour »

Cette mise à disposition fait l'objet d'une convention d'utilisation individuelle de la marque « Apiculteur du Rucher École de Rocamadour » en annexe II.

Chaque année le conseil d'administration du Rucher École de Rocamadour fixe le coût des éléments d'étiquetage à la charge de l'apiculteur.

#### 9 - Promotion des produits marqués

Chaque fois que cela sera matériellement possible, le Rucher École de Rocamadour s'engage à assurer la promotion des produits marqués faisant référence à la présente charte :

- Sur son site web [www.rucher-rocamadour.org](http://www.rucher-rocamadour.org) et sa page Facebook.
- Dans ses publications, catalogues et dépliant, en fonction de la logique de leurs contenus.
- Lors de sa participation à des conférences, expositions et manifestations locales.

#### 10 - Contrôles, sanctions

##### 10-1 : Contrôles

Le Rucher École de Rocamadour se réserve le droit :

- De procéder à des contrôles pouvant notamment concerner : la conformité des produits, l'implantation des ruches, le matériel, les consommables prévus à l'annexe III ainsi que les sites de production.
- De demander à l'adhérent de produire tous les documents attestant de ses bonnes pratiques et, plus particulièrement, ceux lui permettant de justifier de sa régularité au regard de l'article 4 de la présente charte.

#### 10-2 : Sanctions

Le conseil d'administration du Rucher École de Rocamadour, se réserve le droit de suspendre ou de retirer l'utilisation des étiquettes, contre-étiquettes et bandes de garantie en cas de non respect de la présente charte.

##### 10-2-1 : Suspension pour motifs d'insuffisance

Pour des motifs d'insuffisance constatés par écrit (plaintes), le conseil d'administration du Rucher École de Rocamadour adresse au signataire un avertissement écrit, précisant le délai dont il dispose pour rectifier les insuffisances constatées, avant suspension provisoire ou définitive des droits d'utilisation.

##### 10-2-2 : Exclusion pour motifs graves

Pour des motifs graves, considérés par le conseil d'administration du Rucher École de Rocamadour comme un risque majeur, la marque est retirée sans préavis.

Le Rucher École de Rocamadour exigera alors la restitution immédiate de tout élément d'étiquetage et, plus généralement, l'arrêt de toute communication se référant à la présente charte en direction du public consommateur.

### **11 - Commission de la charte**

La commission de la charte, placée sous la responsabilité du conseil d'administration du Rucher École de Rocamadour, est chargée de l'administration de celle-ci.

Elle assure son suivi, propose les évolutions nécessaires, statue sur les demandes d'adhésion et les conventions d'utilisation et procède aux contrôles prévus à l'article 10-1 de la présente charte.

### **12 - Validité de la charte**

Cette charte est susceptible d'évoluer en fonction des modifications apportées à l'ensemble des processus de production et de commercialisation.

Cette évolution interviendrait avec la signature de nouveaux documents d'adhésion et conventions d'utilisation.

**Adhésion à la charte qualité-miel**  
**« Apiculteur du Rucher École de Rocamadour »**

Dans l'objectif :

- De certifier le respect de bonnes pratiques apicoles, respectueuses de l'abeille et de son environnement.
- De garantir des miels répondant à des critères de qualité.
- D'identifier à travers la marque « Apiculteur du Rucher École de Rocamadour » des miels spécifiques, récoltés et mis en pot par le signataire.

Madame, Monsieur : .....

Ci-dénotmé(e) « l'apiculteur »

Demeurant : .....

Adhérent(e) du Rucher École de Rocamadour et à jour de sa cotisation en cours.

Déclare :

- Avoir pris connaissance de la charte qualité-miel régissant la marque « Apiculteur du Rucher École de Rocamadour » et en accepter les termes.
- S'engager à respecter l'intégralité de la présente charte.
- Joindre au présent document :
  - Sa dernière déclaration obligatoire de ruches pour l'année en cours.
  - Son n° SIRET, dans le cas où il commercialiserait son miel ou le céderait à titre gracieux en dehors du cercle familial.

Cet engagement est valable pour une durée de trois ans, tacitement renouvelable.

Il sera, le cas échéant, actualisé par référence à l'évolution de la charte tel que prévu dans son article 11.

Toutefois, si l'apiculteur désire mettre fin à son engagement avant le terme, il devra le faire par courrier simple, moyennant un préavis de un mois.

Dès lors, il ne pourra plus bénéficier du droit d'usage de la marque « Apiculteur du Rucher École de Rocamadour », devra remettre tous les éléments de marque en sa possession et cesser toute communication faisant référence à celle-ci, en direction du public consommateur.

Fait en double exemplaire à : ..... le : .....

L'apiculteur :

Le président du Rucher École de Rocamadour :

## **Convention d'utilisation individuelle de la marque « Apiculteur du Rucher École de Rocamadour »**

Considérant que les objectifs de la charte visent :

- A certifier le respect de bonnes pratiques apicoles, respectueuses de l'abeille et de son environnement.
- A garantir des miels répondant à des critères de qualité.
- A identifier, à travers la marque « Apiculteur du Rucher École de Rocamadour », des miels spécifiques, récoltés et mis en pot par le signataire.

Vu les termes, conditions et obligations de la charte.

Entre, d'une part :

Le Rucher École de Rocamadour, représenté par son président :

Monsieur .....

Et, d'autre part :

Madame, Monsieur, .....

Demeurant .....

Ci-dénommé(e) « l'apiculteur », adhérent du Rucher École de Rocamadour et à jour de sa cotisation en cours.

Il a été convenu ce qui suit :

### **Article 1 - Bénéficiaire**

Le droit d'utilisation de la marque « Apiculteur du Rucher École de Rocamadour » est attribué à l'apiculteur désigné ci-dessus.

### **Article 2 - Produits concernés**

La présente convention d'utilisation de la marque concerne exclusivement les miels récoltés et mis en pots par l'apiculteur.

### **Article 3 - Condition d'utilisation**

Le droit d'utilisation de la marque est subordonné à l'adhésion et au respect intégral de la charte.

### **Article 4 - Utilisation de la marque**

Pour les produits désignés à l'article 2 de la convention et à l'exclusion de tout autre, l'apiculteur est autorisé à utiliser la marque selon les modalités précisées dans la charte.

Les supports de la marque-sont fournis par le Rucher École de Rocamadour et leur coûts à charge de l'apiculteur.

L'apiculteur accepte que les produits évoqués à l'article 2 de la convention puissent être cités et faire l'objet de toutes opérations de communication, promotion, animation ou publicité engagées collectivement par le Rucher École de Rocamadour au profit des produits marqués, telles que prévues à l'article 9 de la charte.

---

*Charte qualité-miel - « Apiculteur du Rucher École de Rocamadour »*

*Version V4.1, modifiée et approuvée par le CA du RER en date du 25/08/18*

*Page 11 sur 13*

*Annexe II*

**Article 5 - Contrôles**

L'apiculteur autorise le Rucher École de Rocamadour à procéder aux différents contrôles prévus à l'article 10-1 de la charte.

Ces contrôles peuvent notamment concerner les produits, les documents, la visite des sites d'implantation des ruches, l'examen du matériel et des consommables utilisés, ainsi que les sites de production.

**Article 6 - Attribution de la marque**

La signature de la présente convention vaut droit d'utilisation.

**Article 7 - Retrait de la marque**

Le Rucher École de Rocamadour, en application des articles 10-2, 10-2-1 et 10-2-2 de la charte, peut retirer à l'apiculteur le droit d'utilisation, sans délai, ni préavis et ce sans recours ou dédommagement en faveur du bénéficiaire qui ici s'y oblige à y renoncer irrévocablement.

Le Rucher École de Rocamadour exigera alors le retrait immédiat et la restitution de tout élément de publicité, affichage, étiquetage et plus généralement de toute communication en direction du public consommateur.

**Article 8 - Durée de la convention**

La présente convention, tacitement renouvelable, engage les deux parties pour une durée de trois ans.

Elle sera, le cas échéant, actualisée par référence à l'évolution de la charte tel que prévu dans son article 11.

Toutefois, si l'apiculteur désire mettre fin à son engagement avant le terme, il devra le faire par courrier simple, moyennant un préavis de un mois.

Dès lors, il ne pourra plus bénéficier du droit d'usage de la marque « Apiculteur du Rucher École de Rocamadour », devra remettre tous les éléments de marque en sa possession et cesser toute communication faisant référence à celle-ci, en direction du public consommateur.

Fait en double exemplaire à : ..... Le : .....

L'apiculteur :

Le président du Rucher École de Rocamadour :

## Liste des produits utilisés dans le cadre de la charte

### Cire de cadres :

- La cire utilisée est de la cire pure d'abeille, provenant de la fonte des opercules et renouvelée régulièrement.

### Nourrissement :

- Sirops, candis et compléments alimentaires issus de l'agriculture traditionnelle ou biologique, à l'exception de ceux contenant des OGM.

### Protection des bois des ruches :

- Lasures et peintures à base végétale, huiles et cires, végétales, animales, minérales.
- Pigments naturels et minéraux, sels minéraux non toxiques vis à vis de l'environnement et des produits de la ruche.
- Terres naturelles et calcinées.
- Trempage dans la cire micro-cristalline entre 135° et 150°.

### Protection des hausses contre la fausse teigne :

- Soufre sous forme de mèche à brûler (SO<sub>2</sub>)
- Bacillus thurengiensis.

### Désinfection du matériel :

- Brûlage à la flamme.
- Hypochlorite de soude.

### Nettoyage du matériel :

- Lessive de soude.
- Lessive de potasse.
- Hypochlorite de soude.

### Lutte anti-varroa :

- Tous produits ayant reçu une autorisation de mise sur le marché (AMM)
- Extraits de végétaux ayant des vertus acaricides : huiles essentielles , pyrèthre.
- Molécules aromatiques : thymol, menthol, eucalyptol, camphre.
- Préparations homéopathiques, isothérapeutiques, biodynamiques.
- Poudres végétales et minérales : acide lactique, acide oxalique, acide formique, acide acétique.

### Récolte des hausses :

- Fumée de végétaux et de combustibles non polluants.

## Annexe 5 : Nom des 320 pesticides différents recherchés

---

2,4,6-TCP	Fluvalinate
Acetochlor	Fluxapyroxad
Aclonifen	Folpet
Acrinathrin	Hexachlorobenzène
Aldrin	Heptachlor endo-epoxide (isomer A)
Amisulbrom	Heptachlor exo-epoxide (isomer B)
Benfluralin	Heptachlor
Bifenox	Ipconazole
Bifenthrin	Iprodione
Bromopropylate	Iprovalicarb
Bromoxynil	Isofenphos
Bromuconazole	Isopyrazam
Cadusafos	Isoxadifen-ethyl
Captan	Lambda cyhalothrin
Carboxin	Lindane
Chlordecone	Metrafenone
Chlorfenapyr	Metribuzin
Chlorobenzilate	Naled
Chlorothalonil	Napropamide
Chlorpyrifos ethyl	Oxadiazon
Chlorpyrifos methyl	Oxyfluorfen
Clomazone	Paclobutrazol
Cyflumetofen	Paraoxon-methyl
Cyfluthrin	Parathion methyl
Cypermethrin	Pendimethalin
Deltamethrin	Penthiopyrad
Dichlofluanid	Phenyl-2-phenol
Dicloran	Phorate
Dicofol	Phthalimide
Dieldrin	Picolinafen
Diflufenican	Picoxystrobin
Dimethachlor	Procymidone
Dimoxystrobin	Propiconazole
Diphenylamine	Propyzamide
Endosulfan alpha	Proquinazid
Endosulfan beta	Prosulfocarb
Endosulfan sulfate	Pyridalyl
Endrin	Quinalofop-ethyl
Ethion	Silthiofam
Ethofenprox	Spirodiclofen
Ethofumesate	Sulfoxaflor
Ethofumesate-2-keto	Terbufos
Ethoprophos	Tetradifon
Fenitrothion	THPI
Fenpropathrin	Tolylfluanid
Fenvalerate	Triallate
Flufenacet	Vinclozolin
Flumioxazin	Zoxamide
Fluopicolid	Dithiocarbamates
Fluroxypyr-1-methylheptyl	1-ANA

1-NAD	Dimethoate	Formetanate HCl
2.4 DMA	Dimethomorph	Hexaconazole
Abamectin	Dinocap	Hexythiazox
Acephate	Dinotefuran	Hydramethylnon
Acequinocyl	Dithianon	Imazalil
Acetamiprid	Diuron	Imazamox
Acibenzolar acid	DMF	Imidacloprid
Acibenzolar-S-methyl	DMPF	Indaziflame
Amectotradin	DMST	Indoxacarb
Ametryn	Dodine	Iodosulfuron-methyl
Amidosulfuron	Emamectin B1a	Isoproturon
Azadirachtin	Emamectin B1b	Isoxaben
Azinphos-methyl	Epoxiconazole	Kresoxim methyl
Azoxystrobin	Etoazole	Lufenuron
Bentazone	Famoxadone	Malaoxon
Bentazone-8-OH	Fenamiphos	Malathion
Benthiavalicarb-isopropyl	Fenamiphos sulfone	Mandipropamid
Benzyladenine	Fenamiphos sulfoxide	Mecoprop
Bifenazate	Fenarimol	Mepanipyrim
Bitertanol	Fenazaquin	Mephosfolan
Bixafen	Fenbuconazole	Mesosulfuron methyl
Boscalid	Fenbutatin oxide	Mesotrione
Bromacil	Fenhexamid	Metalaxyl
Bupirimate	Fenoxaprop-P	Metaldehyde
Buprofezin	Fenoxycarb	Metamitron
Carbaryl	Fenpropidin	Metconazole
Carbendazim	Fenpropimorph	Methamidophos
Carbetamide	Fenpyrazamine	Methidathion
Carbofuran	Fenpyroximate	Methiocarb
Carbofuran-3-hydroxy	Fenthion	Methiocarb sulfone
Chlorantraniliprole	Fenthion sulfone	Methiocarb sulfoxide
Chlorfluazuron	Fenthion sulfoxide	Methomyl
Clodinafop	Fipronil	Methoxyfenozide
Clofentezine	Fipronil sulfone	Metobromuron
Clopyralid	Flazasulfuron	Metsulfuron methyl
Clothianidin	Flonicamid	Myclobutanil
Cyantraniliprole	Florasulam	Nicosulfuron
Cyazofamid	Fluazinam	Norflurazon
Cycloxydim	Flubendiamide	Novaluron
Cyflufenamid	Fludioxonil	Nuarimol
Cymoxanil	Flufenoxuron	Omethoate
Cyproconazole	Fluopyram	Oryzalin
Cyprodinil	Fluoxastrobin	Oxamyl
DEET	Flupyrsulfuron-methyl	Oxydemeton methyl
Desmedipham	Fluquinconazole	Oxydemeton methyl sulfone
Diazinon	Flurtamone	Penconazole
Dicamba	Flusilazole	Penoxsulam
Dichlorvos	Flutriafol	Phenmedipham
Difenoconazole	Foramsulfuron	Phorate sulfone
Diflubenzuron	Forchlorfenuron	Phorate sulfoxide

Phosalone	Thiacloprid
Phosmet	Thiamethoxam
Phosmet oxon	Thiencarbazone-methyl
Phoxim	Thifensulfuron-methyl
Pinoxaden	Thiodicarb
Piperonyl butoxide	Thiophanate methyl
Pirimicarb	Triadimefon
Prochloraz	Triadimenol
Profenofos	Tribenuron-methyl
Prohexadione Ca	Trichlorfon
Propamocarb	Tridemorph
Propaquizafop	Trifloxystrobin
Propargite	Triflumizole
Prosulfuron	Triflumuron
Prothioconazole	Triforine
Prothioconazole desthio	Trinexapac
Pymetrozine	Triticonazole
Pyraclostrobin	Tritosulfuron
Pyridaben	Valifenalate
Pyridafol	Vamidothion
Pyridate	
Pyrifenox	
Pyrimethanil	
Pyriproxyfen	
Quinalphos	
Quinmerac	
Quinoxifen	
Rimsulfuron	
Rotenone	
Spinetoram J	
Spinetoram L	
Spinosad A	
Spinosad D	
Spiromesifen	
Spirotetramat	
Spirotetramat cis keto hydroxy	
Spirotetramat enol	
Spirotetramat enol glucoside	
Spirotetramat mono hydroxy	
Spiroxamine	
Sulcotrione	
Sulfosulfuron	
Tebuconazole	
Tebufenozide	
Tebufenpyrad	
Teflubenzuron	
Tetraconazole	
TFNA	
TFNG	
Thiabendazole	

## Annexe 6 : Certificat d'analyse des miels

### CERTIFICAT D'ANALYSE

Service de Pharmacologie et Toxicologie  
 Centre Hospitalier Universitaire  
 2, avenue Martin Luther King 87042 LIMOGES Cedex  
 Tél. : 05.55.05.61.40 Fax : 05.55.05.61.62

Nom du produit <b>Miel</b>		Variété du produit	
Origine du produit			
Nom du client	Apiculteur du RER	N° dossier d'analyse	DS996670
Adresse client	Institut du Pech de Gourbière 46500 ROCAMADOUR	N° d'échantillon CHU	Ext00103
N° d'échantillon client	35	Codification article	PRO/EXT/MIEL
Date de réception	05/10/2019	Code spécification	L/MULTINAC (Ed.14)
Date d'analyse	10/10/2019	Nom des opérateurs	JM / FV / ER / AP / ML
Matière active Molécules	Méthode d'analyse	Limite de détection	Résultats
2-phenylphenol	CGSMSM/PTP ATO 0065	0.003 mg/kg	< LDD
Abamectin (sum of isomers)	CLSMSM/PTP ATO 0046	0.003 mg/kg	< LDD
Acephate	CLSMSM/PTP ATO 0046	0.003 mg/kg	< LDD
Acequinocyl	CLSMSM/PTP ATO 0046	0.003 mg/kg	< LDD
Acetamiprid	CLSMSM/PTP ATO 0046	0.003 mg/kg	< LDD
Acetochlor	CGSMSM/PTP ATO 0065	0.003 mg/kg	< LDD
Acibenzolar-S-methyl	CLSMSM/PTP ATO 0046	0.003 mg/kg	< LDD
Aclonifen	CGSMSM/PTP ATO 0065	0.003 mg/kg	< LDD
Acrinathrin	CGSMSM/PTP ATO 0065	0.003 mg/kg	< LDD
Aldrin and Dieldrin (Aldrin and Dieldrin combined expressed as Dieldrin)	CGSMSM/PTP ATO 0065	0.003 mg/kg	< LDD
Ametryn	CLSMSM/PTP ATO 0046	0.003 mg/kg	< LDD
Amisulbrom	CGSMSM/PTP ATO 0065	0.003 mg/kg	< LDD
Amitraz metabolites including 2,4-DMA (sum expressed as amitraz)		0.003 mg/kg	< LDD
Azadirachtin	CLSMSM/PTP ATO 0046	0.050 mg/kg	< LDD
Azinphos-methyl	CLSMSM/PTP ATO 0046	0.003 mg/kg	< LDD
Azoxystrobin	CLSMSM/PTP ATO 0046	0.003 mg/kg	< LDD
Benfluralin	CGSMSM/PTP ATO 0065	0.003 mg/kg	< LDD
Bifenazate	CLSMSM/PTP ATO 0046	0.003 mg/kg	< LDD
Bifenox	CGSMSM/PTP ATO 0065	0.003 mg/kg	< LDD
Bifenthrin (sum of isomers)	CGSMSM/PTP ATO 0065	0.003 mg/kg	< LDD
Bitertanol (sum of isomers)	CLSMSM/PTP ATO 0046	0.003 mg/kg	< LDD
Boscalid	CLSMSM/PTP ATO 0046	0.003 mg/kg	< LDD
Bromacyl	CLSMSM/PTP ATO 0046	0.003 mg/kg	< LDD
Bromopropylate	CGSMSM/PTP ATO 0065	0.003 mg/kg	< LDD
Bromuconazole (sum of diastereoisomers)	CGSMSM/PTP ATO 0065	0.003 mg/kg	< LDD
Bupirimate	CLSMSM/PTP ATO 0046	0.003 mg/kg	< LDD
Buprofezin	CLSMSM/PTP ATO 0046	0.003 mg/kg	< LDD
Cadusafos	CGSMSM/PTP ATO 0065	0.003 mg/kg	< LDD
Captan (sum of captan and THIPI, expressed as captan)	CGSMSM/PTP ATO 0065	0.003 mg/kg	< LDD
Carbaryl	CLSMSM/PTP ATO 0046	0.003 mg/kg	< LDD
Carbendazim (sum of carbendazim and benomyl, expressed as carbendazim)	CLSMSM/PTP ATO 0046	0.003 mg/kg	< LDD
Carbetamide (sum of carbetamide and its S isomer)	CLSMSM/PTP ATO 0046	0.003 mg/kg	< LDD
Carbofuran (carbosulfan, benfuracarb or furathiocarb) and 3-OH carbofuran (expressed as carbofuran)	CLSMSM/PTP ATO 0046	0.003 mg/kg	< LDD
Chlorantraniliprole (DPX E-2Y45)	CLSMSM/PTP ATO 0046	0.003 mg/kg	< LDD
Chlordecone	CGSMSM/PTP ATO 0065	0.003 mg/kg	< LDD
Chlorfenapyr	CGSMSM/PTP ATO 0065	0.003 mg/kg	< LDD
Chlorfluazuron	CLSMSM/PTP ATO 0046	0.003 mg/kg	< LDD
Chlorobenzilate	CGSMSM/PTP ATO 0065	0.003 mg/kg	< LDD

Date : 17/10/2019

Certificat d'analyse n° DS996670 - Ext00103

Page : 1 / 5

Edition : 1

QUALIMS QMS

N° d'échantillon client 35			
Matière active Molécules	Méthode d'analyse	Limite de détection	Résultats
Chlorothalonil	CGSMSM/PTP ATO 0065	0.003 mg/kg	< LDD
Chlorpyrifos	CGSMSM/PTP ATO 0065	0.003 mg/kg	< LDD
Chlorpyrifos-methyl	CGSMSM/PTP ATO 0065	0.003 mg/kg	< LDD
Clofentezine	CLSMSM/PTP ATO 0046	0.003 mg/kg	< LDD
Clomazone	CGSMSM/PTP ATO 0065	0.003 mg/kg	< LDD
Clothianidin	CLSMSM/PTP ATO 0046	0.003 mg/kg	< LDD
Cyantraniliprole	CLSMSM/PTP ATO 0046	0.003 mg/kg	< LDD
Cycloxydim	CLSMSM/PTP ATO 0046	0.003 mg/kg	< LDD
Cyflufenamid (sum of isomers Z and E)	CLSMSM/PTP ATO 0046	0.003 mg/kg	< LDD
Cyflumetofen	CGSMSM/PTP ATO 0065	0.003 mg/kg	< LDD
Cyfluthrin (sum of isomers)	CGSMSM/PTP ATO 0065	0.003 mg/kg	< LDD
Cymoxanil	CLSMSM/PTP ATO 0046	0.003 mg/kg	< LDD
Cypermethrin (sum of isomers)	CGSMSM/PTP ATO 0065	0.003 mg/kg	< LDD
Cyproconazole	CLSMSM/PTP ATO 0046	0.003 mg/kg	< LDD
Cyprodinil	CLSMSM/PTP ATO 0046	0.003 mg/kg	< LDD
DEET	CLSMSM/PTP ATO 0046	0.003 mg/kg	< LDD
Deltamethrin	CGSMSM/PTP ATO 0065	0.003 mg/kg	< LDD
Desmedipham	CLSMSM/PTP ATO 0046	0.003 mg/kg	< LDD
Diazinon	CLSMSM/PTP ATO 0046	0.003 mg/kg	< LDD
Dichlofluanid	CGSMSM/PTP ATO 0065	0.003 mg/kg	< LDD
Dichlorvos	CLSMSM/PTP ATO 0046	0.003 mg/kg	< LDD
Dicloran	CGSMSM/PTP ATO 0065	0.003 mg/kg	< LDD
Dicofol (sum of p,p' and o,p' isomers)	CGSMSM/PTP ATO 0065	0.003 mg/kg	< LDD
Difenoconazole	CLSMSM/PTP ATO 0046	0.003 mg/kg	< LDD
Diflubenzuron	CLSMSM/PTP ATO 0046	0.003 mg/kg	< LDD
Diflufenican	CGSMSM/PTP ATO 0065	0.003 mg/kg	< LDD
Dimethoate	CLSMSM/PTP ATO 0046	0.003 mg/kg	< LDD
Dimethomorph (sum of isomers)	CLSMSM/PTP ATO 0046	0.003 mg/kg	< LDD
Dinocap	CLSMSM/PTP ATO 0046	0.003 mg/kg	< LDD
Dinotefuran	CLSMSM/PTP ATO 0046	0.003 mg/kg	< LDD
Diphenylamine	CGSMSM/PTP ATO 0065	0.003 mg/kg	< LDD
Dithianon	CLSMSM/PTP ATO 0046	0.003 mg/kg	< LDD
Dithiocarbamates (expressed as CS2)	CGSM/PTP ATO 0015	0.005 mg/kg	< 0.010 mg/kg
Diuron	CLSMSM/PTP ATO 0046	0.003 mg/kg	< LDD
Dodine	CLSMSM/PTP ATO 0046	0.003 mg/kg	< LDD
Emamectin benzoate B1a, expressed as emamectin	CLSMSM/PTP ATO 0046	0.003 mg/kg	< LDD
Endosulfan (sum of alpha and beta isomers and endosulfan-sulphate expressed as endosulfan)	CGSMSM/PTP ATO 0065	0.003 mg/kg	< LDD
Endrin	CGSMSM/PTP ATO 0065	0.003 mg/kg	< LDD
Epoxiconazole	CLSMSM/PTP ATO 0046	0.003 mg/kg	< LDD
Esfenvalerate (sum of isomers)	CGSMSM/PTP ATO 0065	0.003 mg/kg	< LDD
Ethion	CGSMSM/PTP ATO 0065	0.003 mg/kg	< LDD
Ethofumesate (sum of ethofumesate and 2-keto-ethofumesate expressed as ethofumesate)	CGSMSM/PTP ATO 0065	0.003 mg/kg	< LDD
Ethoprophos	CGSMSM/PTP ATO 0065	0.003 mg/kg	< LDD
Etofenprox	CGSMSM/PTP ATO 0065	0.003 mg/kg	< LDD
Etoxazole	CLSMSM/PTP ATO 0046	0.003 mg/kg	< LDD
Fenamiphos (sum of fenamiphos and its sulfoxide and sulphone expressed as fenamiphos)	CLSMSM/PTP ATO 0046	0.003 mg/kg	< LDD
Fenarimol	CLSMSM/PTP ATO 0046	0.003 mg/kg	< LDD
Fenazaquin	CLSMSM/PTP ATO 0046	0.003 mg/kg	< LDD
Fenbuconazole	CLSMSM/PTP ATO 0046	0.003 mg/kg	< LDD
Fenbutatin oxide	CLSMSM/PTP ATO 0046	0.003 mg/kg	< LDD
Fenhexamid	CLSMSM/PTP ATO 0046	0.003 mg/kg	< LDD
Fenitrothion	CGSMSM/PTP ATO 0065	0.003 mg/kg	< LDD
Fenoxycarb	CLSMSM/PTP ATO 0046	0.003 mg/kg	< LDD
Fenpropathrin	CGSMSM/PTP ATO 0065	0.003 mg/kg	< LDD
Fenpropidin (sum of fenpropidin and its salts, expressed as fenpropidin)	CLSMSM/PTP ATO 0046	0.003 mg/kg	< LDD
Fenpropimorph	CLSMSM/PTP ATO 0046	0.003 mg/kg	< LDD
Fenpyrazamine	CLSMSM/PTP ATO 0046	0.003 mg/kg	< LDD

Date : 17/10/2019

Certificat d'analyse n° DS996670 - Ext00103

Page : 2 / 5

Edition : 1

QUALIMS QMS

N° d'échantillon client 35			
<i>Matière active</i>	<i>Méthode</i>	<i>Limite de</i>	<i>Résultats</i>
<i>Molécules</i>	<i>d'analyse</i>	<i>détection</i>	
Fenpyroximate	CLSMSM/PTP ATO 0046	0.003 mg/kg	< LDD
Fenthion (fenthion and their sulfoxides and sulfone expressed as fenthion)	CLSMSM/PTP ATO 0046	0.003 mg/kg	< LDD
Fipronil (sum fipronil + sulfone metabolite (MB46136) expressed as fipronil)	CLSMSM/PTP ATO 0046	0.003 mg/kg	< LDD
Flazasulfuron	CLSMSM/PTP ATO 0046	0.003 mg/kg	< LDD
Flonicamid (sum of flonicamid, TFNA and TFNG expressed as flonicamid)	CLSMSM/PTP ATO 0046	0.003 mg/kg	< LDD
Fluazinam	CLSMSM/PTP ATO 0046	0.003 mg/kg	< LDD
Flubendiamide	CLSMSM/PTP ATO 0046	0.003 mg/kg	< LDD
Fludioxonil	CLSMSM/PTP ATO 0046	0.003 mg/kg	< LDD
Flufenacet	CGSMSM/PTP ATO 0065	0.003 mg/kg	< LDD
Flufenoxuron	CLSMSM/PTP ATO 0046	0.003 mg/kg	< LDD
Flumioxazine	CGSMSM/PTP ATO 0065	0.003 mg/kg	< LDD
Fluopyram	CLSMSM/PTP ATO 0046	0.003 mg/kg	< LDD
Fluquinconazole	CLSMSM/PTP ATO 0046	0.003 mg/kg	< LDD
Fluroxypyr-methylheptyl ester	CGSMSM/PTP ATO 0065	0.003 mg/kg	< LDD
Flurtamone	CLSMSM/PTP ATO 0046	0.003 mg/kg	< LDD
Flusilazole	CLSMSM/PTP ATO 0046	0.003 mg/kg	< LDD
Flutriafol	CLSMSM/PTP ATO 0046	0.003 mg/kg	< LDD
Fluvalinate	CGSMSM/PTP ATO 0065	0.003 mg/kg	< LDD
Fluxapyroxad	CGSMSM/PTP ATO 0065	0.003 mg/kg	< LDD
Folpet (sum of folpet and phtalimide, expressed as folpet)	CGSMSM/PTP ATO 0065	0.003 mg/kg	< LDD
Foramsulfuron	CLSMSM/PTP ATO 0046	0.003 mg/kg	< LDD
Formetanate (sum of formetanate and its salts expressed as formetanate hydrochloride)	CLSMSM/PTP ATO 0046	0.003 mg/kg	< LDD
Heptachlor (sum of Heptachlor and Heptachlor epoxide expressed as Heptachlor)	CGSMSM/PTP ATO 0065	0.003 mg/kg	< LDD
Hexachlorobenzene	CGSMSM/PTP ATO 0065	0.003 mg/kg	< LDD
Hexaconazole	CLSMSM/PTP ATO 0046	0.003 mg/kg	< LDD
Hexythiazox	CLSMSM/PTP ATO 0046	0.003 mg/kg	< LDD
Hydramethylnon	CLSMSM/PTP ATO 0046	0.003 mg/kg	< LDD
Imazalil	CLSMSM/PTP ATO 0046	0.003 mg/kg	< LDD
Imidacloprid	CLSMSM/PTP ATO 0046	0.003 mg/kg	< LDD
Indaziflam	CLSMSM/PTP ATO 0046	0.003 mg/kg	< LDD
Indoxacarb (sum of indoxacarb and its R enantiomer)	CLSMSM/PTP ATO 0046	0.003 mg/kg	< LDD
Iprodione	CGSMSM/PTP ATO 0065	0.003 mg/kg	< LDD
Isofenphos	CGSMSM/PTP ATO 0065	0.003 mg/kg	< LDD
Isoproturon	CLSMSM/PTP ATO 0046	0.003 mg/kg	< LDD
Isopyrazam	CGSMSM/PTP ATO 0065	0.003 mg/kg	< LDD
Isoxaben	CLSMSM/PTP ATO 0046	0.003 mg/kg	< LDD
Isoxadifen-ethyl	CGSMSM/PTP ATO 0065	0.003 mg/kg	< LDD
Kresoxim-methyl	CLSMSM/PTP ATO 0046	0.003 mg/kg	< LDD
Lambda-cyhalothrin	CGSMSM/PTP ATO 0065	0.003 mg/kg	< LDD
Lindane (gamma isomer of hexachlorocyclohexane (HCH))	CGSMSM/PTP ATO 0065	0.003 mg/kg	< LDD
Lufenuron	CLSMSM/PTP ATO 0046	0.003 mg/kg	< LDD
Malathion (sum of malathion and malaaxon expressed as malathion)	CLSMSM/PTP ATO 0046	0.003 mg/kg	< LDD
Mepanipyrim	CLSMSM/PTP ATO 0046	0.003 mg/kg	< LDD
Mephosfolan	CLSMSM/PTP ATO 0046	0.003 mg/kg	< LDD
Mesosulfuron-methyl	CLSMSM/PTP ATO 0046	0.003 mg/kg	< LDD
Metalaxyl (sum of metalaxyl and metalaxyl-M)	CLSMSM/PTP ATO 0046	0.003 mg/kg	< LDD
Metaldehyde	CLSMSM/PTP ATO 0046	0.003 mg/kg	< LDD
Metamitron	CLSMSM/PTP ATO 0046	0.003 mg/kg	0.009 mg/kg
Metconazole (sum of isomers)	CLSMSM/PTP ATO 0046	0.003 mg/kg	< LDD
Methamidophos	CLSMSM/PTP ATO 0046	0.003 mg/kg	< LDD
Methidathion	CLSMSM/PTP ATO 0046	0.003 mg/kg	< LDD
Methiocarb (sum of methiocarb and methiocarb sulfoxide and sulfone, expressed as methiocarb)	CLSMSM/PTP ATO 0046	0.003 mg/kg	< LDD
Methomyl	CLSMSM/PTP ATO 0046	0.003 mg/kg	< LDD
Methoxyfenozide	CLSMSM/PTP ATO 0046	0.003 mg/kg	< LDD
Metrafenone	CGSMSM/PTP ATO 0065	0.003 mg/kg	< LDD

Date : 17/10/2019

Certificat d'analyse n° DS996670 - Ext00103

Page : 3 / 5

Edition : 1

QUALIMS QMS

N° d'échantillon client 35			
<i>Matière active</i>	<i>Méthode</i>	<i>Limite de</i>	<i>Résultats</i>
<i>Molécules</i>	<i>d'analyse</i>	<i>détection</i>	
Metsulfuron-méthyl	CLSMSM/PTP ATO 0046	0.003 mg/kg	< LDD
Myclobutanil	CLSMSM/PTP ATO 0046	0.003 mg/kg	< LDD
Naled	CGSMSM/PTP ATO 0065	0.003 mg/kg	< LDD
Napropamide	CGSMSM/PTP ATO 0065	0.003 mg/kg	< LDD
Norflurazon	CLSMSM/PTP ATO 0046	0.003 mg/kg	< LDD
Novaluron	CLSMSM/PTP ATO 0046	0.003 mg/kg	< LDD
Nuarimol	CLSMSM/PTP ATO 0046	0.003 mg/kg	< LDD
Omethoate	CLSMSM/PTP ATO 0046	0.003 mg/kg	< LDD
Oryzalin	CLSMSM/PTP ATO 0046	0.003 mg/kg	< LDD
Oxadiazon	CGSMSM/PTP ATO 0065	0.003 mg/kg	< LDD
Oxamyl	CLSMSM/PTP ATO 0046	0.003 mg/kg	< LDD
Oxydemeton-méthyl	CLSMSM/PTP ATO 0046	0.003 mg/kg	< LDD
Oxyfluorfen	CGSMSM/PTP ATO 0065	0.003 mg/kg	< LDD
Pacloubutrazol	CGSMSM/PTP ATO 0065	0.003 mg/kg	< LDD
Parathion-méthyl (sum of parathion-méthyl and paraoxon-méthyl expressed parathion-méthyl)	CGSMSM/PTP ATO 0065	0.003 mg/kg	< LDD
Penconazole	CLSMSM/PTP ATO 0046	0.003 mg/kg	< LDD
Pendimethalin	CGSMSM/PTP ATO 0065	0.003 mg/kg	< LDD
Penthiopyrad	CGSMSM/PTP ATO 0065	0.003 mg/kg	< LDD
Phenmedipham	CLSMSM/PTP ATO 0046	0.003 mg/kg	< LDD
Phorate (sum of phorate and phorate sulfone and phorate sulfoxide expressed as phorate)	CLSMSM-0046/CGSMSM-0065	0.003 mg/kg	< LDD
Phosalone	CLSMSM/PTP ATO 0046	0.003 mg/kg	< LDD
Phosmet (phosmet and phosmet oxon expressed as phosmet)	CLSMSM/PTP ATO 0046	0.003 mg/kg	< LDD
Phoxim	CLSMSM/PTP ATO 0046	0.003 mg/kg	< LDD
Piperonyl butoxide	CLSMSM/PTP ATO 0046	0.003 mg/kg	< LDD
Pirimicarb	CLSMSM/PTP ATO 0046	0.003 mg/kg	< LDD
Prochloraz (sum of prochloraz and 2,4,6-trichlorophenol expressed as prochloraz)	CLSMSM-0046/CGSMSM-0065	0.003 mg/kg	< LDD
Procymidone	CGSMSM/PTP ATO 0065	0.003 mg/kg	< LDD
Profenofos	CLSMSM/PTP ATO 0046	0.003 mg/kg	< LDD
Prohexadione (prohexadione (acid) and its salts expressed as prohexadione-calcium)	CLSMSM/PTP ATO 0046	0.003 mg/kg	< LDD
Propamocarb (sum of propamocarb and its salts, expressed as propamocarb)	CLSMSM/PTP ATO 0046	0.003 mg/kg	< LDD
Propargite	CLSMSM/PTP ATO 0046	0.003 mg/kg	< LDD
Propiconazole (sum of isomers)	CGSMSM/PTP ATO 0065	0.003 mg/kg	< LDD
Propyzamide	CGSMSM/PTP ATO 0065	0.003 mg/kg	< LDD
Prosulfocarb	CGSMSM/PTP ATO 0065	0.003 mg/kg	< LDD
Prosulfuron	CLSMSM/PTP ATO 0046	0.003 mg/kg	< LDD
Prothioconazole and prothioconazole-desthio (sum expressed as prothioconazole)	CLSMSM/PTP ATO 0046	0.003 mg/kg	< LDD
Pymetrozine	CLSMSM/PTP ATO 0046	0.003 mg/kg	< LDD
Pyraclostrobin	CLSMSM/PTP ATO 0046	0.003 mg/kg	< LDD
Pyridaben	CLSMSM/PTP ATO 0046	0.003 mg/kg	< LDD
Pyridalyl	CGSMSM/PTP ATO 0065	0.003 mg/kg	< LDD
Pyridate (sum of pyridate and pyridafol expressed as pyridate)	CLSMSM/PTP ATO 0046	0.003 mg/kg	< LDD
Pyrifenox	CLSMSM/PTP ATO 0046	0.003 mg/kg	< LDD
Pyrimethanil	CLSMSM/PTP ATO 0046	0.003 mg/kg	< LDD
Pyriproxyfen	CLSMSM/PTP ATO 0046	0.003 mg/kg	< LDD
Quinalphos	CLSMSM/PTP ATO 0046	0.003 mg/kg	< LDD
Quinoxifen	CLSMSM/PTP ATO 0046	0.003 mg/kg	< LDD
Quizalofop ethyl	CGSMSM/PTP ATO 0065	0.003 mg/kg	< LDD
Rimsulfuron	CLSMSM/PTP ATO 0046	0.003 mg/kg	< LDD
Rotenone	CLSMSM/PTP ATO 0046	0.003 mg/kg	< LDD
Spinetoram (XDE-175-J and XDE-175-L)	CLSMSM/PTP ATO 0011	0.003 mg/kg	< LDD
Spinosad (spinosad, sum of spinosyn A and spinosyn D)	CLSMSM/PTP ATO 0046	0.003 mg/kg	< LDD
Spirodiclofen	CGSMSM/PTP ATO 0065	0.003 mg/kg	< LDD
Spiromesifen	CLSMSM/PTP ATO 0046	0.003 mg/kg	< LDD
Spirotetramat (sum of spirotetramat and their metabolites expressed as spirotetramat)	CLSMSM/PTP ATO 0046	0.003 mg/kg	< LDD
Spiroxamine (sum of isomers)	CLSMSM/PTP ATO 0046	0.003 mg/kg	< LDD

Date : 17/10/2019

Certificat d'analyse n° DS996670 - Ext00103

Page : 4 / 5

Edition : 1

QUALIMS QMS

N° d'échantillon client 35

<i>Matière active Molécules</i>	<i>Méthode d'analyse</i>	<i>Limite de détection</i>	<i>Résultats</i>
Sulfosulfuron	CLSMSM/PTP ATO 0046	0.003 mg/kg	< LDD
Sulfoxaflor (sum of isomers)	CGSMSM/PTP ATO 0065	0.003 mg/kg	< LDD
Tebuconazole	CLSMSM/PTP ATO 0046	0.003 mg/kg	< LDD
Tebufozide	CLSMSM/PTP ATO 0046	0.003 mg/kg	< LDD
Tebufenpyrad	CLSMSM/PTP ATO 0046	0.003 mg/kg	< LDD
Teflubenzuron	CLSMSM/PTP ATO 0046	0.003 mg/kg	< LDD
Terbufos	CGSMSM/PTP ATO 0065	0.003 mg/kg	< LDD
Tetraconazole	CLSMSM/PTP ATO 0046	0.003 mg/kg	< LDD
Tetradifon	CGSMSM/PTP ATO 0065	0.003 mg/kg	< LDD
Thiabendazole	CLSMSM/PTP ATO 0046	0.003 mg/kg	< LDD
Thiacloprid	CLSMSM/PTP ATO 0046	0.003 mg/kg	< LDD
Thiamethoxam	CLSMSM/PTP ATO 0046	0.003 mg/kg	< LDD
Thiodicarb	CLSMSM/PTP ATO 0046	0.003 mg/kg	< LDD
Thiophanate-methyl	CLSMSM/PTP ATO 0046	0.003 mg/kg	< LDD
Tolyfluanid (sum of tolyfluanid and DMST expressed as tolyfluanid)	CGSMSM-0065/CLSMSM-0046	0.003 mg/kg	< LDD
Triadimefon	CLSMSM/PTP ATO 0046	0.003 mg/kg	< LDD
Triadimenol	CLSMSM/PTP ATO 0046	0.003 mg/kg	< LDD
Trichlorfon	CLSMSM/PTP ATO 0046	0.003 mg/kg	< LDD
Tridemorph	CLSMSM/PTP ATO 0046	0.003 mg/kg	< LDD
Trifloxystrobin	CLSMSM/PTP ATO 0046	0.003 mg/kg	< LDD
Triflumizole	CLSMSM/PTP ATO 0046	0.003 mg/kg	< LDD
Triflumuron	CLSMSM/PTP ATO 0046	0.003 mg/kg	< LDD
Triforine	CLSMSM/PTP ATO 0046	0.003 mg/kg	< LDD
Vamidothion	CLSMSM/PTP ATO 0046	0.003 mg/kg	< LDD
Vinclozolin	CGSMSM/PTP ATO 0065	0.003 mg/kg	< LDD

**Validé**

Le 17/10/2019, par ~~A. GARDERE~~  
INGENIEUR - RESPONSABLE TECHNIQUE

Le résultat d'analyse n'est pas corrigé par le taux de récupération : la gamme d'étalonnage est extraite dans une matrice similaire aux échantillons à analyser.

Date : 17/10/2019

Certificat d'analyse n° DS996670 - Ext00103

Page : 5 / 5

Edition : I

QUALIMS QMS

## Serment De Galien

---

Je jure en présence de mes Maîtres de la Faculté et de mes condisciples :

- d'honorer ceux qui m'ont instruit dans les préceptes de mon art et de leur témoigner ma reconnaissance en restant fidèle à leur enseignement ;

- d'exercer, dans l'intérêt de la santé publique, ma profession avec conscience et de respecter non seulement la législation en vigueur, mais aussi les règles de l'honneur, de la probité et du désintéressement ;

- de ne jamais oublier ma responsabilité, mes devoirs envers le malade et sa dignité humaine, de respecter le secret professionnel.

En aucun cas, je ne consentirai à utiliser mes connaissances et mon état pour corrompre les mœurs et favoriser les actes criminels.

Que les hommes m'accordent leur estime si je suis fidèle à mes promesses.

Que je sois couvert d'opprobre et méprisé de mes confrères, si j'y manque.

## Néonicotinoïdes et produits apicoles

---

Mis sur le marché dans les années 1990, les néonicotinoïdes (NNC) sont les pesticides les plus utilisés dans le monde. La famille regroupe 7 molécules : l'imidaclopride, l'acétamipride, le nitenpyrame, le thiaméthoxame, le thiaclopride, la clothianidine et le dinotéfurane. En agriculture, ils sont utilisés pour la protection des cultures par traitement du sol, des parties aériennes ou enrobage des semences. Ils ont une action systémique et ont un mécanisme d'action identique à celui de la nicotine en se fixant notamment sur les récepteurs nicotiques de l'acétylcholine (nAChRs) des insectes. Rapidement, l'existence d'une toxicité a été soupçonnée et l'utilisation de ces pesticides a été remise en cause.

L'objectif de ce travail était de faire un bilan des connaissances scientifiques actuelles au travers de l'exemple du miel et des produits apicoles qui sont au cœur de la polémique autour des NNC: quel est le niveau de présence des NNC dans l'environnement ? Que savons-nous des conséquences d'une exposition aux NNC ?

---

Mots-clés : néonicotinoïdes, nicotine, récepteurs nicotiques à l'acétylcholine, abeilles, miel.

## Neonicotinoids and apiculture products

---

Neonicotinoids (NNC) are the most used pesticides in the world. The family includes 7 molecules: imidacloprid, acetamiprid, nitenpyram, thiamethoxam, thiacloprid, clothianidin and dinotefuran. They have been introduced in the 1990s and are mainly used in agriculture for the protection of crops by soil's treatment, aerial parts or for seeds coating. NNC have a nicotine-like structure and have a high affinity for nicotinic acetylcholine receptors of insects. Since they have been launched, a controversy appeared concerning their potential toxicity.

Focusing on apiculture products and bees, this work aimed at presenting an actual and objective overview of the scientific knowledge about the toxicity of NNC.

---

Keywords : neonicotinoids, nicotine, nicotinic acetylcholine receptors, bees, honey.

