



Faculté de Pharmacie

Année 2020-2021

Thèse N°

Thèse pour le diplôme d'État de docteur en Pharmacie

Présentée et soutenue publiquement

Le 27 novembre 2020

Par

Elies Zarrouk

Né(e) le 27 juillet 1995 à Montluçon (03)

Détection et dosage de pesticides dans des produits apicoles

Thèse dirigée par le professeur **Franck SAINT-MARCOUX**

Examineurs :

Le Professeur Phillipe Cardot.....Président du jury

Le Professeur Franck Saint-Marcoux.....Directeur de thèse

Le Professeur Bertrand Courtioux.....Membre du jury

Monsieur Olivier Du Peloux.....Membre du jury



Faculté de Pharmacie

Année 2020-2021

Thèse N°

Thèse pour le diplôme d'État de docteur en Pharmacie

Présentée et soutenue publiquement

Le 27 novembre 2020

Par Elies Zarrouk

Né(e) le 27 juillet 1995 à Montluçon (03)

Détection et dosage de pesticides dans des produits apicoles

Thèse dirigée par le professeur **Franck SAINT-MARCOUX**

Examineurs :

Le Professeur Phillipe Cardot.....Président du jury

Le Professeur Franck Saint-Marcoux.....Directeur de thèse

Le Professeur Bertrand Courtioux.....Membre du jury

Monsieur Olivier Du Peloux.....Membre du jury

Liste des enseignants

Le 1^{er} septembre 2020

DOYEN DE LA FACULTE :

Monsieur le Professeur Bertrand **COURTIOUX**

VICE-DOYEN :

Monsieur David **LEGER**

ASSESSEURS :

Monsieur le Professeur Serge **BATTU**, Monsieur le Professeur Nicolas **PICARD**

PROFESSEURS :

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

PROFESSEURS DES UNIVERSITES - PRATICIENS HOSPITALIERS DES DISCIPLINES PHARMACEUTIQUES :

PICARD Nicolas	PHARMACOLOGIE
ROGEZ Sylvie	BACTERIOLOGIE ET VIROLOGIE
SAINT-MARCOUX Franck	TOXICOLOGIE

MCU-PH DES DISCIPLINES PHARMACEUTIQUES :

CHAUZEIX Jasmine	HÉMATOLOGIE
JOST JérémY	PHARMACIE CLINIQUE

MAITRES DE CONFERENCES :

BASLY Jean-Philippe	CHIMIE ANALYTIQUE ET BROMATOLOGIE
BEAUBRUN-GIRY Karine	PHARMACOTECHNIE
BÉGAUD Gaëlle	CHIMIE ANALYTIQUE ET CONTRÔLE DU MÉDICAMENT
BILLET Fabrice	PHYSIOLOGIE
CALLISTE Claude	BIOPHYSIQUE, BIOMATHEMATIQUES ET INFORMATIQUE
CHEMIN Guillaume	BIOCHIMIE
CLÉDAT Dominique	CHIMIE ANALYTIQUE ET BROMATOLOGIE
COMBY Francis	CHIMIE ORGANIQUE ET THERAPEUTIQUE
DELEBASSÉE Sylvie	MICROBIOLOGIE-PARASITOLOGIE- IMMUNOLOGIE
DEMIOT Claire-Elise	PHARMACOLOGIE
FABRE Gabin	SCIENCES PHYSICO-CHIMIQUES ET INGÉNIERIE APPLIQUÉE
FROISSARD Didier	BOTANIQUE ET CRYPTOLOGAMIE
JAMBUT Anne-Catherine	CHIMIE ORGANIQUE ET THERAPEUTIQUE
LABROUSSE Pascal	BOTANIQUE ET CRYPTOLOGAMIE
LAVERDET Betty	PHARMACIE GALÉNIQUE
LAWSON Roland	PHARMACOLOGIE
LEGER David	BIOCHIMIE ET BIOLOGIE MOLÉCULAIRE
MARRE-FOURNIER Françoise	BIOCHIMIE ET BIOLOGIE MOLÉCULAIRE
MERCIER Aurélien	PARASITOLOGIE
MILLOT Marion	PHARMACOGNOSIE

MOREAU Jeanne

MICROBIOLOGIE-PARASITOLOGIE-
IMMUNOLOGIE

PASCAUD-MATHIEU Patricia

PHARMACIE GALENIQUE – BIOMATÉRIAUX
CERAMIQUES

POUGET Christelle

CHIMIE ORGANIQUE ET THÉRAPEUTIQUE

VIGNOLES Philippe

BIOPHYSIQUE, BIOMATHÉMATIQUES ET
INFORMATIQUE

ATTACHE TEMPORAIRE D'ENSEIGNEMENT ET DE RECHERCHE :

BOUDOT Clotilde

MICROBIOLOGIE
(du 01/09/2018 au 31/08/2020)

MARCHAND Guillaume

CHIMIE ORGANIQUE ET THÉRAPEUTIQUE
(du 01/09/2019 au 31/08/2020)

PROFESSEURS EMERITES :

DREYFUSS Gilles (jusqu'au 31/03/2021)

Remerciements

Il ne me fut pas donné de réaliser seul mon parcours universitaire, dont ce manuscrit est l'aboutissement, loin sans faut. Aussi il me faut rendre hommage, ici, à tous ceux qui m'ont accompagné tout au long de ce chemin :

Au Professeur Franck Saint-Marcoux, qui m'a fait l'insigne honneur de diriger cette thèse, j'adresse mes sincères remerciements. Je souhaite vous assurer de ma profonde gratitude pour la confiance que vous m'avez accordée ainsi que pour la manière humaine et franche avec laquelle vous m'avez guidé lors de ces derniers mois. Je place le fait de travailler avec vous, autant comme une chance qu'un plaisir.

Au Professeur Philippe Cardot, qui m'a fait le plaisir d'accepter de présider mon jury de thèse, j'adresse mes sincères remerciements pour avoir rendu possible la réalisation de cette étude, mettant ainsi en lumière un sujet sensible, et malheureusement toujours d'actualité.

Au Professeur Bertrand Courtioux, Doyen de la Faculté de Pharmacie de Limoges, j'adresse mes sincères remerciements pour l'honneur qu'il m'a fait d'accepter de faire partie de mon jury de thèse.

En plus de leur aide pour la réalisation de cette étude, j'adresse aux professeurs Saint-Marcoux, Cardot, et Courtioux, mes chaleureux remerciements pour les enseignements qu'ils m'ont prodigués durant mes années d'études en pharmacie.

A Monsieur Olivier du Peloux, j'adresse mes sincères remerciements pour son aide essentielle et attentive tout au long de ce projet, pour l'abnégation dont il a fait montre pour relayer les informations aux adhérents du rucher, organiser les prélèvements, les centraliser, les recenser. Sur un plan plus personnel, je souhaite également vous remercier pour la gentillesse que vous m'avez manifestée lors de mes venues au rucher école.

Au Professeur Pierre Marquet, j'adresse mes sincères remerciements pour avoir accepté ma venue dans le service, permettant ainsi la réalisation de cette étude.

A Arnaud Gardère, Fanny Buisson, Alexis Pellerin, Julie Mounier, Florence Le Cavelier Des Etangs, et Elodie Roux, j'adresse mes sincères remerciements pour leur accueil au sein du service, l'aide précieuse et la patience qu'ils ont manifesté à mon endroit.

Aux adhérents du Rucher-Ecole-de-Rocamadour, je souhaite adresser mes remerciements pour leur implication dans le projet, c'est grâce à vos prélèvements réguliers et assidus que cette étude a pu être menée, merci aussi pour votre accueil et les bons moments passés lors de mes passages.

A mes parents Hichem et Claire Zarrouk, j'adresse la reconnaissance éternelle d'un fils qui les aime. Mille mercis pour l'éducation et les valeurs que vous m'avez inculquées.

A ma chère Laura, les mots sont peu de chose pour exprimer ce que je te dois. Merci pour le soutien indéfectible que tu me manifestes au fur et à mesure des années dans les bons comme dans les mauvais moments.

A Hédi et Myriam, merci pour votre appui sans faille, faire partie de cette fratrie tricéphale me comble de fierté.

Un grand merci à toute les membres de ma famille, des côtés Zarrouk et Depoux pour le soutien chaleureux, les conseils et la force qu'ils m'apportent au quotidien.

Un grand merci à mes amis, Fred, Guy, Pierre, Paul, Pascaline, Fanny... vous qui embellissez mes années.

Un grand merci enfin, à tous ceux que je n'ai pas cités et qui m'ont accompagné durant ces années.

A mes grands-parents, Jean, Emilienne, Noureddine et Hédia, puissè-je vous rendre fiers.

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/>



SOMMAIRE

I) Les pollinisateurs en danger : cas des abeilles	2
1) La pollinisation.....	2
2) Anatomie et physiologie de l'abeille	2
2.1 Anatomie de l'abeille ¹	3
2.2 Physiologie : cas du métabolisme chez l'abeille.....	7
2.3 Développement de l'abeille	9
3) Le déclin des abeilles	10
4) Déclin des abeilles : quelles conséquences	11
5) Causes de mortalité.....	11
6) Pesticides et abeilles	12
5.1 Cas des Néonicotinoïdes	12
5.2 Pesticides et abeilles : Législation	13
II) Travaux personnels : Détection et dosage de pesticides dans des produits apicoles	Erreur ! Signet non défini.
1) Stratégie	14
2) Terrain de l'étude	14
3) Prélèvement des échantillons	15
3.1 Miel.....	15
3.2 Sirops et « Candi »	16
3.3 Pollen	16
3.4 Pain d'abeille	17
3.5 Abeilles	17
3.6 Cires	18
4) Préparation et analyse des échantillons	18
4.1 Miel.....	18
4.2 Pollen	19
4.3 Pain d'abeille	20
4.4 Abeilles	20
4.5 Cires	20
5) Analyse des résultats.....	20
III) Résultats	21
1) Miel.....	21
2) Sirops et Candi.....	22
3) Pollen.....	22
4) Pain d'abeille	23
5) Abeilles	26
IV) Discussion.....	30
V) Conclusion.....	32

LISTE DES ABRÉVIATIONS

CBRS : *Centre de biologie et de recherche en santé du CHU de Limoges*

CYP : *Cytochrome*

DMF : *N, N-diméthylformamide*

DMPF : *N-(2,4-diméthylphényl)-formamide*

DL50 : *Dose létale 50*

EFSA : *Autorité européenne de sécurité des aliments*

GC-MS/MS : *Chromatographie gazeuse couplé la spectrométrie de masse en tandem*

INRA : *Institut national de la recherche agronomique*

IPBES : *Fondation pour la recherche sur la biodiversité*

LC-MS/MS : *Chromatographie liquide couplé la spectrométrie de masse en tandem*

LDD : *Limite de détection*

LDQ : *Limite de quantification*

LMR : *Limite maximale de résidus*

NN : *Néonicotinoïdes*

PPB : *Parti par billion (microgrammes par litres)*

QuEChERS : *Quick, Easy, Cheap, Effective, Rugged and Safe*

THPI : *Tetrahydrophthalimide*

TABLEAUX ET FIGURES

Tableau 1 : Résultats de l'analyse des échantillons de miel.....	21
Tableau 2 : Répartition des échantillons positifs par zone	21
Tableau 3 : Résultats de l'analyse des échantillons de pollen.....	22
Tableau 4 : Répartition des échantillons positifs par zone	22
Tableau 5 : Résultats de l'analyse des échantillons de pain d'abeille	24
Tableau 6 : Répartition des échantillons positifs par zone	25
Tableau 7 : Résultats de l'analyse des échantillons d'abeille	26
Tableau 8 : Répartition des échantillons positifs par zone	26
Tableau 9: Résultats de l'analyse des échantillons de cire du commerce	27
Tableau 10: Résultats de l'analyse des échantillons de cire gaufrées "non chimiques"	28
Tableau 11: Résultats de l'analyse des échantillons de cire gaufrée "chimiques"	28
Tableau 12: Résultats de l'analyse des échantillons de cire prélevés dans les ruches	29
Tableau 13: Répartition des échantillons positifs par zone	29
Figure 1: Schéma de la pollinisation entomophile	2
Figure 2: Anatomie de l'abeille.....	3
Figure 3: Antenne de l'abeille.....	4
Figure 4: Appareil buccal de l'abeille.....	4
Figure 5: Organes internes de l'abeille	6
Figure 6: Schéma de la reproduction chez l'abeille.....	7
Figure 7: Cycle du développement des abeilles	10
Figure 8: Répartition géographique des apiculteurs affiliés au RER	14

Figure 9 : Répartition des pesticides retrouvés au sein des échantillons de pain d'abeille.....	23
---	----

Présentation de la structure d'accueil :

J'ai eu la chance de pouvoir réaliser mon étude au sein d'une structure spécialisée, entouré d'experts reconnus. Le paragraphe ci-dessous a pour objet la description de cette structure.

Le CHU de Limoges est une structure regroupant quatre hôpitaux, un EHPAD, la faculté de médecine - pharmacie ainsi que le centre de biologie et de recherche en santé (CBRS). Par sa forte activité, le CHU de Limoges emploie près de 7000 personnes ce qui le place comme premier employeur de l'ex-région Limousin.

Mon étude a lieu au CHU de Limoges au sein du Service de pharmacologie, toxicologie et pharmacovigilance. Plus précisément, j'ai travaillé au sein de l'UF de toxicologie environnementale et de santé au travail sous la responsabilité du Dr Souleiman El Balkhi et du Pr Franck Saint-Marcoux, dont l'activité principale est la recherche et le dosage de résidus de pesticides dans les milieux biologiques ou dans des matrices agroalimentaires.

Quelques informations sur cette Unité Fonctionnelle sont présentées en annexe 1.

I) Les pollinisateurs en danger : cas des abeilles

1) La pollinisation

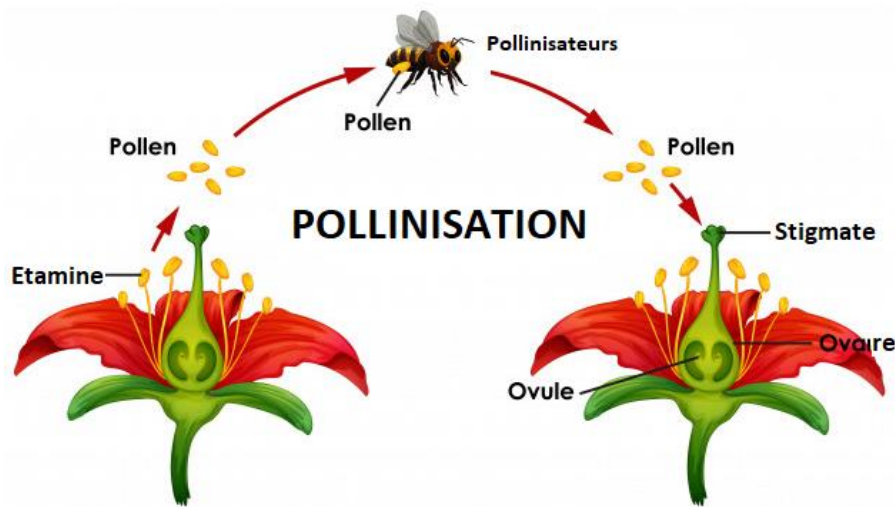


Figure 1 : Schéma de la pollinisation entomophile (« source freepik.com »)

Survenant dans la reproduction des plantes angiospermes et gymnospermes, la pollinisation est le transfert des grains de pollen (gamètes mâles) depuis l'étamine vers le stigmate (organe femelle).

Pour effectuer ce transfert, les plantes ont besoin d'un vecteur, lequel peut être le vent (anémogamie), l'eau (hydrogamie) ou les animaux (zoogamie), majoritairement les insectes mais aussi certains vertébrés.

Le vent est responsable de la pollinisation d'un cinquième des plantes, parmi lesquelles le blé, le riz ou le maïs.

La zoogamie, ou pollinisation entomophile, assure quant à elle la reproduction de 90% des plantes à fleurs. 70% des plantes cultivées dépendent des animaux que ce soit dans le secteur de l'arboriculture, comme les pommes, de la culture céréalière comme le sarrasin, d'oléagineux comme le colza ainsi que pour le secteur de la culture maraîchère, autant de fruits et de légumes dont les précieux nutriments sont indispensables à notre alimentation.

Dans ce travail, l'importance de cette pollinisation entomophile sera abordée par le prisme des abeilles, et pour cause, 90% des cultures mondiales sont visitées par les abeilles. Cependant d'autres espèces sont impliquées, des vertébrés comme les chauves-souris et les oiseaux ou d'autres insectes, dont les bourdons, les papillons et de nombreuses espèces de mouches.

2) Anatomie et physiologie de l'abeille

Le but de cette partie n'est pas de décrire en détails l'anatomie de l'abeille, mais d'en présenter succinctement les différentes structures, afin de mieux comprendre les spécificités de cette espèce.

2.1 Anatomie de l'abeille¹

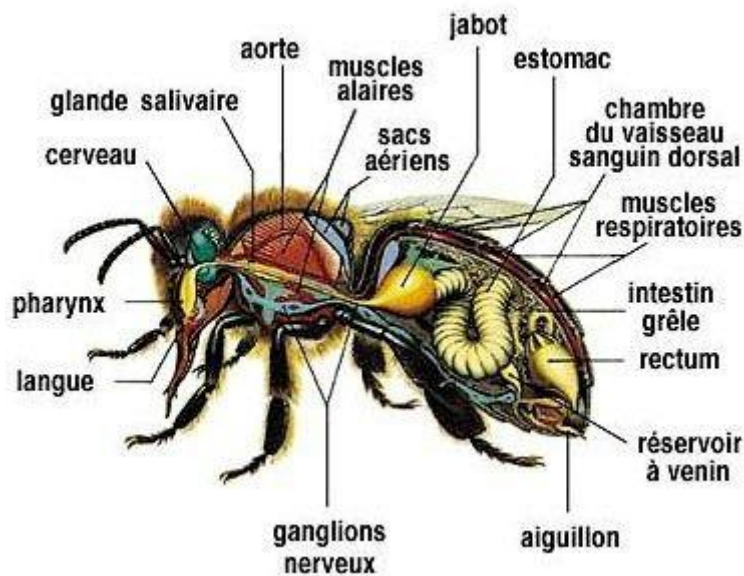


Figure 2: Anatomie de l'abeille¹

L'abeille est un insecte, soit selon la définition du dictionnaire « Larousse » : Un animal invertébré articulé, respirant par des trachées et dont la tête est indépendante du thorax, qui comprend trois anneaux portant chacun une paire de pattes.

Le site « passion-entomologie.fr »² revient plus en détail sur les différentes parties propres aux insectes, ces différentes parties serviront de fil conducteur pour notre propre description de l'abeille.

L'exosquelette externe : composé chez l'abeille (de l'intérieur vers l'extérieur) de l'hypoderme, d'une cuticule chitineuse souple et perméable, d'une cuticule rigide et imperméable d'une couche de mélanine, d'une couche cireuse et enfin de poils recouvrant tout le corps de l'insecte.

La tête (prosoma) : cette première structure porte les principaux organes sensoriels de l'abeille.

L'abeille présente deux yeux, comportant deux types de récepteurs ; des milliers d'ommatidies, structures coniques permettant de percevoir les formes, les couleurs et le plan de polarisation de la lumière. Les ommatidies permettent donc à l'abeille de s'orienter dans l'espace par rapport au soleil. L'autre type de récepteur présent au niveau des yeux sont les ocelles, au nombre de trois, qui permettent de détecter l'intensité lumineuse.

Sur la tête nous retrouvons deux antennes ou flagellum, composés de dix segments chez l'abeille femelle, et de onze chez le mâle.

Le scape en amont du flagellum, renferme les organes campaniformes, sensibles aux variations de pression et de température sur la cuticule. Le premier fragment du flagellum est appelé pédicelle, et renferme les organes de Johnston qui captent les mouvements du flagellum et permettent à l'abeille de s'équilibrer.

L'extrémité du flagellum présente de nombreux organes sensoriels ; les sensilles trichoïdes qui captent les vibrations et permettent ainsi la réception du son, les sensilles basiconiques (chémorécepteurs) qui permettent de percevoir les goûts et odeurs, et les plaques poreuses présentes sur les huit derniers segments qui sont impliquées dans l'orientation.

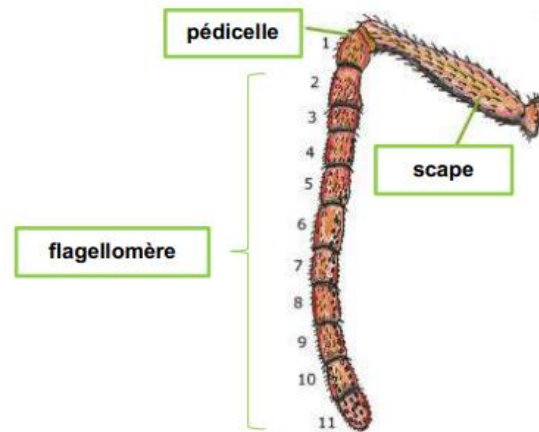


Figure 3: Antenne de l'abeille¹

Pour compléter la description de la tête, l'abeille possède des pièces buccales composées de trois parties ; le labre, les mandibules et le proboscis.

Le labre est la lèvre supérieure, elle ferme la cavité buccale par l'avant.

Les mandibules constituent la mâchoire supérieure, elles ferment la cavité buccale par les côtés, elles permettent l'écoulement des sécrétions des glandes mandibulaires (phéromones, gelée royale), elles permettent également de malaxer et de façonner la cire et la propolis.

Le proboscis ferme quant à lui la cavité buccale par l'arrière, il s'agit d'une structure cylindrique qui permet l'ingestion.

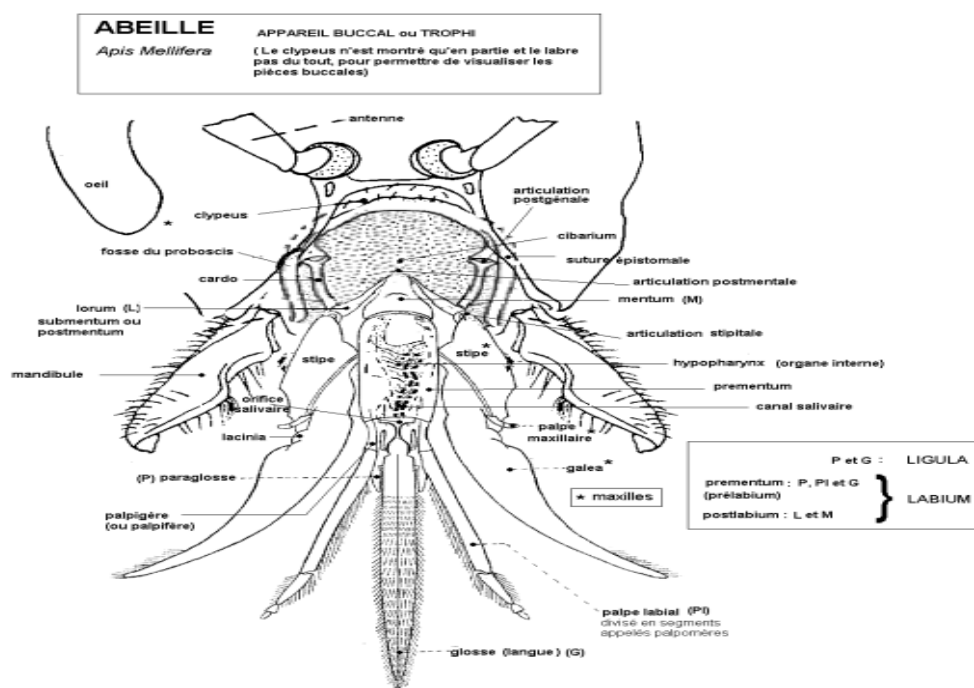


Figure 4: Appareil buccal de l'abeille³

Le thorax (mésosome) : Partie intermédiaire située entre la tête et l'abdomen, elle est divisée en trois segments dont chacun porte une paire de pattes, les 2^e et 3^e segments présentent chacun une paire d'ailes.

Les trois paires de pattes possèdent chacune des particularités propres à leur fonction, les pattes antérieures servent à nettoyer les antennes à l'aide d'un « peigne » présent à leur extrémité.

Les pattes moyennes servent au nettoyage du thorax, ainsi qu'au transfert des matériaux vers les pattes postérieures. Ces dernières sont équipées pour recevoir pollen et propolis. Des structures semblables à des « peignes » et des « râteaux » permettent de constituer des pelotes qui seront stockées dans les « corbeilles » à pollen, présentes sur les faces externes des pattes.

Sur le thorax, on trouve également deux paires d'ailes, les ailes antérieures sont plus volumineuses que les ailes postérieures, elles sont à l'origine d'une excroissance de l'exosquelette. Ces replis membraneux sont parcourus de vaisseaux hémolympatiques qui en assurent l'irrigation. Un crochet, « l'hamulis » relie les deux paires d'ailes pour qu'elles ne constituent qu'un seul plan une fois en vol.

L'abdomen (métasome) : constitué de sept segments chez l'abeille femelle, huit chez le mâle, cette structure renferme les organes internes de l'abeille et porte le dard à son extrémité.

L'appareil respiratoire de l'abeille ne comporte pas de poumons, l'air pénètre par des stigmates (deux au niveau du thorax, huit au niveau de l'abdomen), qui débouchent à la trachée. Le gaz carbonique produit est éliminé par l'hémolymphe, impliquant un lien entre les systèmes respiratoires et cardio-vasculaires.

L'appareil circulatoire ne comporte pas d'hémoglobine ni de canaux lymphatiques, c'est pourquoi on parle d'hémolymphe chez l'abeille et non pas de sang. Tous les organes baignent dans l'hémolymphe et y puisent oxygène et nutriments. L'abeille possède un cœur rudimentaire, ou vaisseau dorsal qui relie la tête à l'abdomen.

Le système nerveux est composé d'un cerveau ainsi que d'une chaîne nerveuse ventrale de sept ganglions. Il s'agit donc d'un système décentralisé, le cerveau assure la commande volontaire des mouvements, les ganglions assurent, eux, l'innervation des organes sensitifs et des muscles. On peut résumer ainsi le rôle des différents ganglions : les trois ganglions céphaliques qui constituent le « cerveau » de l'abeille commandent aux organes sensoriels et buccaux présents au niveau de la tête, les ganglions thoraciques assurent l'innervation des pattes et des ailes, et enfin, les ganglions abdominaux commandent aux organes reproducteurs, à l'appareil vulnérant et au dard.

Le système digestif commence par un ensemble de glandes présentes au niveau de la tête de l'abeille, se poursuit par l'intestin, composé de trois parties, et se termine par l'appareil excréteur.

Les abeilles possèdent un appareil glandulaire complexe que je vais tenter de décrire succinctement dans les lignes qui suivent.

Les glandes hypopharyngiennes sont impliquées dans la sécrétion de la gelée royale par les

jeunes nourrices, et plus tard, dans la production d'invertase chez les travailleuses. L'invertase est une enzyme qui permet de produire du miel à partir du nectar en transformant le saccharose en fructose. Les glandes mandibulaires sont impliquées dans la sécrétion de la gelée royale, dans l'élaboration de la cire par les travailleuses, ainsi que dans la sécrétion de phéromones par la reine. Les glandes salivaires sont à l'origine de sécrétions qui servent à dissoudre et ramollir les substances que l'abeille travaille, des sécrétions lipophiles pour manipuler la cire, ainsi que des sécrétions aqueuses pour dissoudre les sucres cristallisés. Les abeilles présentent également des glandes cirières.

L'intestin antérieur ou pharynx, permet de pomper le nectar et le miel, et de les stocker au niveau du jabot, réserve pouvant accueillir quelques 70mL de liquide.

L'intestin moyen commence par une valve, le proventricule, qui évite les reflux du contenu gastrique. S'abouche ensuite le ventricule, équivalent de notre estomac, qui correspond au siège de la digestion, les éléments nutritifs y sont absorbés et transmis à l'hémolymphe. A l'extrémité de l'intestin moyen, on trouve le pylore, qui assure la filtration des déchets.

L'intestin postérieur est composé de l'intestin grêle et du rectum, c'est là que sont stockés les excréments avant leur élimination.

L'appareil vulnérant, absent chez le mâle se compose d'un appareil glandulaire qui sécrète le venin et s'abouche au niveau du sac à venin. Un appareil moteur, permet quant à lui, la sortie de l'aiguillon et l'injection du venin grâce à des muscles qui permettent la projection du dard. Le dard est formé de deux lancettes « barbelées » percées de canaux d'où s'écoule le venin. Une abeille ne pourra piquer qu'une seule fois, cette manœuvre s'avérant fatale puisque la projection du dard s'accompagne d'un arrachement d'une partie de l'abdomen.

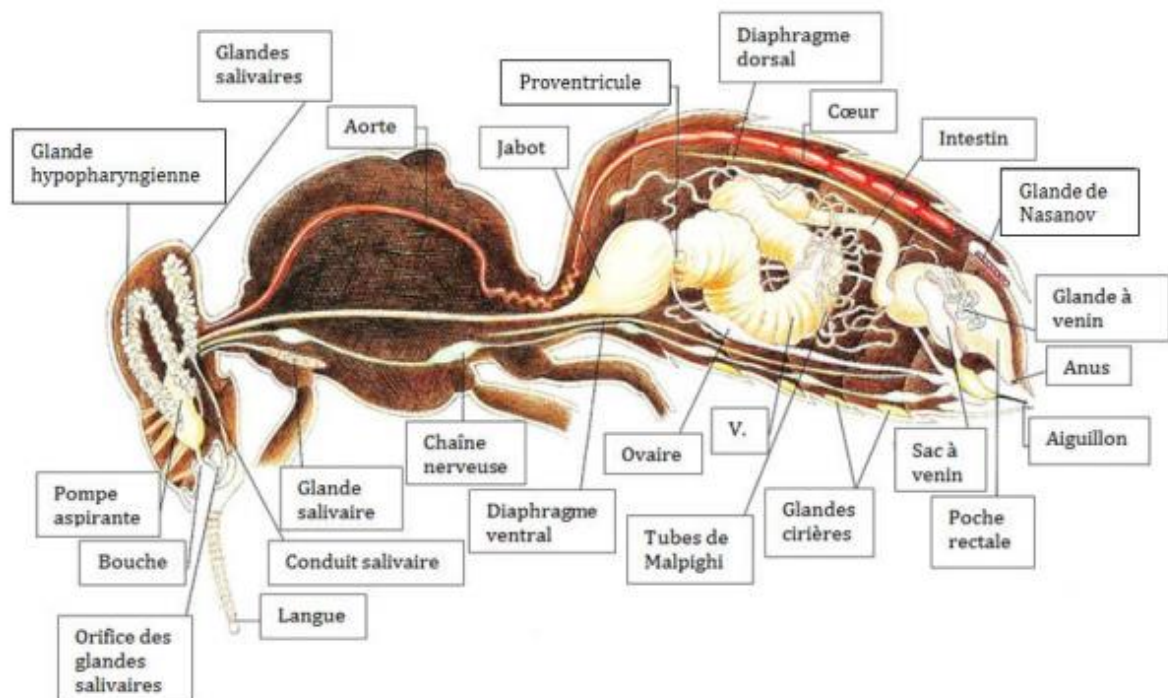


Figure 5 : Organes internes de l'abeille⁴

L'appareil reproducteur est constitué de deux ovaires reliés à la cavité vaginale par l'oviducte qui débouche dans la chambre de l'aiguillon. La reine dispose d'une spermathèque qui débouche dans la cavité vaginale. L'œuf qui sort de l'oviducte va être plaqué contre l'orifice de la spermathèque, une quantité de sperme sera alors libérée pour assurer la fécondation. Les œufs fécondés donneront des femelles, cependant, reines et ouvrières ont la possibilité de pondre des œufs non fécondés qui donneront naissance à des mâles.

L'appareil reproducteur des mâles est composé de deux testicules produisant les spermatozoïdes qui seront conduits par les canaux déférents jusqu'à la vésicule séminale où ils seront stockés. Les glandes à mucus produisent une substance visqueuse afin d'éviter l'écoulement de la semence hors des voies génitales de la reine. Le pénis des mâles est invaginé et s'évagine au moment de l'accouplement. L'accouplement est un acte fatal pour les abeilles mâles.

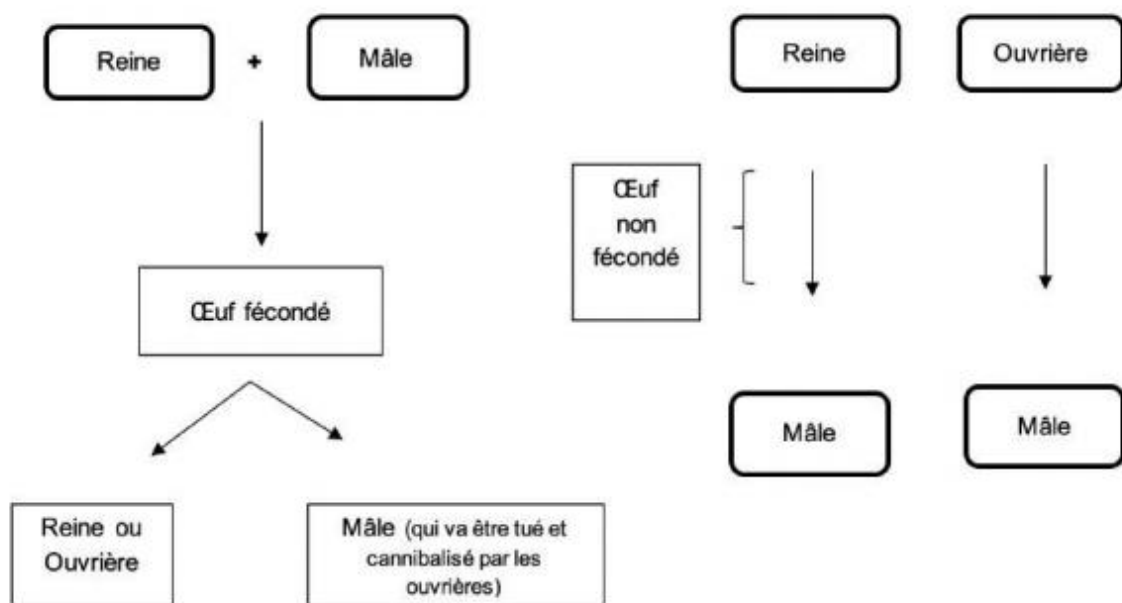


Figure 6 Schéma de la reproduction chez l'abeille¹

2.2 Physiologie : cas du métabolisme chez l'abeille

La question du métabolisme est centrale dès lors que l'on s'intéresse aux relations entre abeilles et pesticides, et pour cause, la fonction même du métabolisme est d'éliminer les composés extérieurs au corps ; ou xénobiotiques. On comprend donc l'importance que les voies de métabolisation peuvent avoir sur la réponse des abeilles aux agresseurs chimiques. Anatomiquement parlant, le siège du métabolisme chez les abeilles est l'intestin moyen, même si d'autres organes possèdent des capacités de métabolisation. Les enzymes de détoxification sont désignées par l'appellation cytochrome (CYP). Les CYP les plus représentés chez l'abeille sont les CYP-3, CYP-6 et CYP-9.

Spécificité du métabolisme chez l'abeille : La première chose qu'il convient de noter, est que contrairement à la plupart des autres insectes, l'abeille possède une faible diversité de CYP. En 2015, l'équipe de Berenbaum et al.⁵ a comparé le nombre de gènes codant pour des

enzymes du métabolisme chez l'abeille et chez la drosophile, et a mis en évidence que l'abeille possède 46 gènes codants pour le CYP450 là où la drosophile en possède 85. D'autre part, l'abeille présente 10 gènes codant pour l'enzyme GST alors que la drosophile en possède 38. Ces résultats abondent dans le sens d'une autre étude réalisée en 2006 par Claudianos et al.⁶ qui a comparé le nombre de gènes codant pour les enzymes ϵ -GST et δ -GST, particulièrement impliquées dans la désintoxication, chez l'abeille, la mouche, et le moustique. Les conclusions de cette étude sont sans appels : l'abeille ne possède aucun gène codant pour une ϵ -GST là où la mouche en possède 14, et le moustique 8, et possède seulement 1 seul gène codant pour une δ -GST là où on en compte 11 chez la mouche, et 12 chez le moustique. De la même façon, on observe que les abeilles possèdent un plus faible nombre de gènes codant pour les enzymes du CYP450 que la mouche ou le moustique.

Après ce constat, Hardstone et al.⁷ ont cherché à déterminer si ce faible nombre d'enzymes se traduisait par une sensibilité accrue aux pesticides, en comparant les valeurs de « dose létale 50 » (DL50 : valeur expérimentale correspondant à la dose induisant la mort de 50% des individus exposés) entre l'abeille et d'autres insectes. Pour cela les auteurs ont comparé les valeurs connues de DL50 de 62 pesticides pour les insectes. Il ressort de cette étude que l'abeille est l'espèce la plus sensible pour 10 pesticides, soit 16% des molécules étudiées, dont 3 néonicotinoïdes. De plus, les DL50 chez l'abeille sont selon les auteurs systématiquement inférieures à la moyenne. Si aucune des études citées n'a catégoriquement conclu à une sensibilité accrue chez l'abeille, ces résultats permettent de craindre les effets « cocktails » dus à l'action de plusieurs pesticides.

Danger des inhibiteurs enzymatiques : L'étude de Mao et al.⁸ s'est attachée à étudier les effets chez l'abeille des inhibiteurs enzymatiques, notamment sur le métabolisme de la quercétine, un flavonoïde végétal présent en grande quantité dans le pollen, le nectar et le propolis. Cette substance naturelle peut être nocive pour les abeilles, car à forte dose elle agit comme un perturbateur endocrinien et provoque un développement ovarien chez les abeilles ouvrières qui conduit à une production anarchique de reines et à une déstabilisation de la colonie.

Les auteurs ont donc administré de la quercétine avec du myclobutanil (inhibiteur enzymatique), et ont observé une forte diminution de l'élimination de la quercétine, une diminution de l'expression des gènes codant pour la chaîne respiratoire mitochondriale et une diminution de la production d'ATP (forme d'énergie mobilisable par l'organisme) au niveau du thorax ; ce qui induit une perte d'énergie pour les muscles des ailes et des pattes.

Cette étude nous montre donc que les inhibiteurs enzymatiques constituent un risque pour la santé des abeilles en diminuant leurs capacités de détoxifications. De nombreux pesticides sont inhibiteurs enzymatiques, notamment la classe des antifongiques azolés.

Influence de l'alimentation sur le métabolisme : L'étude de Berenbaum et al.⁵ met en évidence les points suivants : l'alimentation joue un rôle dans la sensibilité des abeilles aux pesticides, ce phénomène serait lié à la qualité du pollen consommé dans les premiers jours après l'éclosion. D'autre part, l'expression du CYP9Q (enzymes de détoxification de la quercétine et des acaricides) augmente significativement chez les abeilles consommant du miel, du propolis et du pollen comparé à celles nourries avec des préparations à base de sucre comme les sirops.

Une autre étude, celle de Johnson et al.⁹ montre que la survie des abeilles exposées à l'aflatoxine B1 est plus élevée chez les abeilles nourries au miel plutôt qu'au sucre. L'étude souligne même la possible toxicité du sucre par la formation d'hydroxyméthyl-furfural. Schmehl et al.¹⁰ montrent quant à eux qu'une abeille nourrie au miel a non seulement une durée de vie supérieure, mais en plus des taux supérieurs en CYP9S1 et CYP9Q3. Il semble donc que la résistance des abeilles aux agents chimiques, ainsi que leur santé en général, soit plus forte lorsqu'elles ont accès à une alimentation « naturelle » plutôt qu'artificielle.

Evolution du métabolisme en fonction du développement de l'abeille : L'abeille subit d'importants changements physiologiques au cours de sa vie, et ces changements jouent sur les capacités de son métabolisme. Berenbaum et al.⁵ ont pu mettre en évidence qu'une exposition aux pyréthrinoides augmente l'activité des enzymes GST chez les larves et les nourrices (jeunes abeilles) mais provoque un phénomène inverse chez les butineuses. Ueno et al.¹¹ sont allés plus loin dans la description de ce phénomène en comparant le métabolisme et l'immunité en fonction de l'âge des abeilles (nourrice ou butineuse). Ils ont pu notamment mettre en évidence une plus grande expression chez les butineuses des gènes codants pour les CYP6AS et CYP9Q au niveau des glandes hypopharyngiennes, des gènes codant pour les CYP6AS, CYP9Q3, CYP6BD1, CYP6AS4 et GST au niveau des glandes mandibulaires et des gènes codant pour les CYP450, CYPAS et GST au niveau des autres organes. Ils observent cependant une plus grande expression des CYP9Q et GST au niveau de l'intestin moyen des nourrices. On constate donc bien que les changements qui s'opèrent chez l'abeille tout au long de son développement ont des répercussions au niveau de sa réponse aux xénobiotiques.

2.3 Développement de l'abeille

De l'œuf à l'adulte : Tout commence avec la ponte d'un œuf dans une alvéole, s'il est fécondé, il donnera naissance à une ouvrière, dans le cas contraire, ce sera un mâle (également appelé « faux bourdon »). Au moment de la ponte, l'œuf est de couleur blanc nacré, cylindrique et incurvé, il mesure environ 1,5mm de long, 0,5mm de large et pèse environ 0,15mg. L'œuf est entouré d'une membrane, appelée chorion, présentant un orifice, le micropyle. C'est par cet orifice que pénètrent les spermatozoïdes pendant la fécondation.

Après trois jours, l'œuf prend une couleur grise, et se couche au fond de l'alvéole, le micropyle se dissout et l'œuf devient larve. La larve se présente sous la forme d'un ver blanc nacré et annelé qui ne comporte comme organe qu'un tube digestif.

A partir du neuvième jour, la larve est fermée dans l'alvéole par un bouchon de cire, l'opercule. La larve file alors son cocon et entame sa transformation en nymphe. Aux alentours de la troisième semaine, on voit le développement des organes sensitifs, des pattes, des antennes, des ailes et des organes internes, on parle alors non plus de nymphe mais de pupa. Une fois les mandibules formées, l'abeille va alors percer l'opercule, sortir de son alvéole et déployer antennes et ailes. La cuticule, encore molle au moment de l'éclosion, va sécher en 12 à 24h. Le dernier stade de développement avant le stade adulte est l'imago, en effet les organes internes se développent pendant huit à dix jours après l'éclosion.



Figure 7 Cycle du développement des abeilles¹²

Evolution de l'abeille au sein de la ruche : Au cours de sa vie, l'abeille va assumer différents rôles en fonction de son âge et des besoins de la colonie.

Les quatre premiers jours après l'éclosion, l'abeille va nettoyer les alvéoles pour qu'elles soient en état de recevoir les œufs ou de stocker la nourriture. Aux alentours du sixième jour, l'abeille assure le rôle de nourrice, elle entretient les larves, ce rôle dépend du développement des glandes hypopharyngiennes et mandibulaires qui permettent la production de gelée royale. Au douzième jour environ, elle devient bâtisseuse, les glandes cirières de l'abdomen sont développées, l'abeille travaille à la confection des rayons de cire. Cette fonction demande beaucoup d'énergie, l'abeille se gave donc de miel et de pollen, la cire produite par les glandes se présente sous forme de petites écailles que l'abeille va pétrir grâce à sa salive. Après quinze jours, l'abeille devient manutentionnaire, elle aspire le nectar et le pollen que ramènent les butineuses, ces substances sont ensuite ingurgitées et régurgitées de nombreuses fois pour diminuer la quantité d'eau présente. Par ailleurs l'abeille va sécréter de l'invertase qui transforme le nectar en miel, l'abeille met fin à cette manipulation lorsque le miel ne contient plus que 18% d'eau. Vers les 17^e et 18^e jours, on voit apparaître des ventileuses dont le rôle va être de réguler les constantes de la ruche (taux de CO₂, température, hygrométrie). Aux alentours de trois semaines, l'abeille assure le rôle de gardienne de la ruche, elle monte la garde et chasse les intrus, les abeilles se différencient des indésirables grâce à l'odeur. Enfin à la fin de son existence, l'abeille remplit son dernier rôle, celui de butineuse, elle sort de la ruche pour aller récolter les substances nécessaires à la colonie. La durée de vie d'une ouvrière varie en fonction des saisons, de 13 à 38 jours en été jusqu'à 140 jours en hiver.

Le développement d'une reine demande 16 jours et une alimentation exclusivement basée sur de la gelée royale, le rôle d'une reine n'évolue pas et consiste à pondre des œufs et à sécréter des phéromones nécessaires à l'équilibre de la colonie. Une reine peut vivre plus longtemps que les ouvrières, un à trois ans en moyenne.

3) Le déclin des abeilles

Dans un rapport de 2016¹³ concernant l'évolution des populations d'abeilles, la « Fondation pour la recherche sur la biodiversité » (IPBES) avançait les chiffres suivants : 9% des espèces d'abeilles sont menacées dans le monde, et les populations déclinent pour 37% d'entre elles.

Ce déclin est plus marqué pour les espèces d'abeilles sauvages, moins soignées et plus vulnérables que les espèces communes.

L'ampleur de ce phénomène en France est évoquée dans un rapport du sénat en 2017¹⁴ : sur la période 2004-2010, le nombre d'apiculteurs a diminué de 40%, le nombre de ruches de 20% et la production de miel a chuté de 28%. Pour faire suite à ce constat, le réseau de surveillance « Resabeille » a été mis en place au niveau français.

Ce phénomène de déclin est loin d'être une exception française, l'enquête « EPILOBEE »¹⁵ réalisée au niveau européen montre que les taux de mortalité des colonies d'abeilles atteignent des valeurs alarmantes dans de nombreux pays. A l'échelle d'un rucher, pour que le cheptel soit viable, on accepte un taux de mortalité hivernal de 10%. Or, cette valeur a été dépassée dans plusieurs pays sur la période 2012-2013 ; les taux de mortalité hivernale atteignant 13.9% en moyenne en France, 29.3% au Royaume Uni, et 32.4% en Belgique. L'étude montre cependant de fortes disparités régionales avec des pays épargnés par ce phénomène (3,2% de mortalité hivernale en Lituanie par exemple).

Les années 2000, ont vu émerger un phénomène de surmortalité des populations d'abeilles appelé « Colony Collapse Disorder » (syndrome d'effondrement). Ce syndrome correspond à une disparition brutale de ruches, avec des abeilles retrouvées mortes ou des ruches abandonnées, ceci quelle que soit la saison.

Cette problématique de disparition des abeilles est particulièrement préoccupante pour la filière agricole et laisse entrevoir des conséquences dramatiques.

4) Déclin des abeilles : quelles conséquences

Le rapport de l'IPBES¹⁶ donne quelques chiffres édifiants concernant le rôle prépondérant des pollinisateurs pour notre sécurité alimentaire :

Les trois quarts des espèces cultivées dépendent de la pollinisation animale, soit 35% de la production agricole végétale mondiale en volume.

Selon une étude de l'Inra¹⁷ de 2013, le poids des pollinisateurs dans l'économie mondiale serait de 153 milliards d'euros, le rapport de l'IPBES¹ l'estime plutôt entre 235 et 577 milliards d'euros.

En plus de leur apport à l'économie, les pollinisateurs constituent un maillon essentiel pour notre alimentation, par la production d'une grande catégorie d'aliments indispensables (légumes, fruits).

Dans un contexte mondial où la sécurité alimentaire pourra devenir source de tension, le rôle des pollinisateurs dans le rendement et la qualité des produits agricoles est primordial, d'où l'intérêt de veiller à la préservation de la santé des abeilles, ainsi qu'à la mesure de leur exposition aux toxiques.

De plus, le déclin des espèces d'abeilles, notamment sauvages, s'intègre pleinement dans des considérations écologiques de préservation des écosystèmes, de survie des espèces et de conservation des paysages.

5) Causes de mortalité

Les abeilles sont exposées à de nombreux dangers qui peuvent individuellement leur nuire, mais le caractère global du déclin des populations d'abeilles suggère plutôt un effet « cocktail » ou synergique, c'est à dire une addition de facteurs qui, affaiblissant les abeilles, renforcent la nuisance de chacun.

Parmi les causes de mortalité on retrouve des agents biologiques : prédateurs comme le frelon asiatique, parasites comme le *Varroa destructor* (acarien se nourrissant de l'hémolymphe des abeilles) ainsi que de nombreux virus, bactéries et champignons pathogènes.

Par ailleurs, l'homme via ses pratiques apicoles et agricoles, marque de son empreinte l'environnement des abeilles. Le développement des pratiques agricoles modernes a favorisé le développement des monocultures, néfastes pour les pollinisateurs à plusieurs titres : premièrement parmi les principales cultures dans le monde, on compte le blé, le maïs et le riz qui ne dépendent pas des pollinisateurs pour leur reproduction et ne constituent donc pas une source d'alimentation.

D'autre part, ces monocultures se font au détriment d'une large diversité de fleurs sauvages ne fleurissant pas toutes à la même saison, de ce fait, la saison de butinage ainsi que la quantité des réserves s'amenuisent, ce qui pousse nombre d'apiculteurs à compléter leurs abeilles en hiver avec des produits industriels comme du sirop ou du sucre (Candi). Cela pose un problème car il a été montré qu'une alimentation artificielle à base de sucrose provoquait une inhibition enzymatique et diminuait la durée de vie des abeilles (Scmehl et al. 2014)¹⁰

L'autre principal danger émanant de l'activité humaine est la dispersion de substances phytopharmaceutiques à usage agricole dans l'environnement.

6) Pesticides et abeilles

S'inscrivant dans un phénomène plus large d'écotoxicologie, on connaît aujourd'hui les effets directs et indirects de nombreux pesticides sur l'homme, la faune et la flore.

5.1 Cas des Néonicotinoïdes

Concernant les abeilles, le lien entre mortalité des abeilles et pesticides ainsi que le débat sur les mesures à mettre en place pour contenir le phénomène, est fortement lié à la classe des néonicotinoïdes (NN), également appelés « Pesticides tueurs d'abeille ».

Les NN sont une classe de pesticides apparus dans les années 90, indiqués dans le traitement des cultures de fruits, légumes, et céréales.

Agoniste des récepteurs cholinergiques, ces molécules sont létales à forte dose pour les abeilles, mais sont aussi responsables à faible dose de perturbations du système nerveux central, désorientation, ainsi que d'une altération du système immunitaire.

En 2005, les NN constituaient la classe d'insecticides la plus vendue dans le monde, mais face à leur toxicité, le législateur s'est peu à peu penché sur le sujet :

En 1999, une première interdiction survient visant l'usage de l'Imidaclopride sur les cultures de tournesol, puis sur les cultures de maïs en 2004.

En 2016, la « loi pour la reconquête de la biodiversité de la nature et des paysages » a interdit l'usage de toutes les molécules appartenant à la famille des NN à compter du 1^{er} septembre 2018, avec des dérogations possibles jusqu'au 1^{er} juillet 2020.

En 2018, l'EFSA¹⁸ a publié un rapport dans lequel était confirmé que les niveaux de pesticides auxquels sont exposés les abeilles en cas d'utilisation des NN sont supérieurs à ceux induisant des effets toxiques, confirmant ainsi le bien fondé des interdictions.

Par la loi du 6 octobre 2020¹⁹, une dérogation à la législation concernant les NN est accordé jusqu'en 2023 pour le secteur de la betterave sucrière, menacé par la prolifération du virus de

la jaunisse transmise par les pucerons. Cette autorisation fournie jusqu'à 2023 fera l'objet d'un nouvel arrêté chaque année par les ministères concernés.

Cette réintroduction s'appuie juridiquement sur l'article 53 du règlement européen du 21 octobre 2009 concernant l'autorisation des produits phytosanitaires qui stipule qu'une substance peut être autorisée sans bénéficier d'AMM pour « un usage limité et contrôlé quand il existe un danger qui ne peut être maîtrisé par d'autres moyens raisonnables ». On peut noter que la France n'est pas précurseur sur la question puisque 10 pays membres de l'union européenne ont déjà fait de même.

5.2 Pesticides et abeilles : Législation

Concernant les risques pour les pollinisateurs, l'arrêté du 28 novembre 2003²⁰ a interdit les traitements insecticides et acaricides durant toute la période de floraison et de production d'exsudats pour les arbres et cultures visités par les pollinisateurs. Il existe toutefois des dérogations pour certains produits, qui peuvent être appliqués de nuit et doivent porter la mention « abeille ».

Le règlement (CE) N° 1107/2009 du règlement européen et du conseil du 21 octobre 2009²¹ a précisé que pour obtenir une autorisation de mise sur le marché, les pesticides doivent faire l'objet d'une évaluation des risques sur les abeilles.

Il doit être démontré qu'une utilisation prolongée entraînera une exposition négligeable pour les abeilles, ou qu'elle n'aura pas « d'effets inacceptables aigus ou chroniques » sur la survie ou le développement des colonies.

Les éléments de cette évaluation sont détaillés dans le règlement européen, et dans un guide édité par l'EFSA²² (*EFSA Guidance Document on the risk assessment of plant protection products on bees *Apis mellifera*, *Bombus* spp. and solitary bees, 2013, mis à jour en 2014*).

Brièvement, les recommandations prévoient deux étapes d'évaluation :

Dans un premier temps, sont évalués les effets aigus (voie orale, contact) et chroniques (voie orale) en laboratoire.

Puis, d'autres études peuvent s'avérer nécessaires. Se rapprochant des conditions d'exposition normales des pesticides (tunnel couvert, champs) et permettant une observation sur le long terme (mortalité, comportement, efficacité du butinage, développement du couvain), ces études peuvent également permettre d'étudier les effets sublétaux (règlement UE 283/2013 et 284/2013).

Ces dispositions, si elles vont dans le sens d'une prise de conscience de la problématique, ne permettent pas à elles seules d'y répondre. D'abord parce que seuls les effets sur les abeilles communes sont concernés par ce cadre réglementaire, laissant entières les interrogations concernant les insectes « sauvages ».

De plus, la réalisation d'études dans des conditions « normales » d'exposition, et ainsi la recherche d'effets sublétaux n'est menée que si des risques « inacceptables » sont mis en évidence lors des essais en laboratoires.

D'autre part, cette réglementation ne prend pas en compte les risques liés aux effets combinés de plusieurs insecticides, ni les effets du stockage de résidus de pesticides dans la ruche.

Les mortalités massives d'abeilles sont aujourd'hui soumises à une déclaration auprès de la direction départementale de la cohésion sociale et de la protection des populations (DDCSPP), et à un examen toxicologique pour déterminer une éventuelle cause chimique.

La réglementation laisse donc toute la place aux études cherchant à mettre en évidence le niveau d'exposition et à observer la toxicité sur les abeilles.

II) Travaux personnels : Recherche et dosage de pesticides dans des produits apicoles

En 2019, le Rucher Ecole de Rocamadour (RER) s'est associé au laboratoire de pharmacologie-toxicologie du CHU de Limoges pour réaliser l'analyse de miels produits dans le Lot et le Sud de la Corrèze.

Cette collaboration avait pour objectif de répondre à différentes questions : 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 dans leurs produits ? L'environnement de chaque ruche a-t-il un impact sur la présence ou non de pesticides dans les produits apicoles ?

1) Stratégie

Les travaux ont été menés en plusieurs étapes :

- Identifier les différentes zones d'exposition en fonction de l'activité agricole environnante
- Etablir un protocole ainsi qu'un planning de prélèvement
- Définir un protocole d'extraction adapté à chaque matrice par un travail de recherche bibliographique
- Identifier et quantifier la présence de pesticides dans diverses matrices apicoles (miel, pain d'abeille, sirop, sucre)
- Estimer les risques liés à cette exposition pour les abeilles et pour l'homme.

2) Terrain de l'étude

Le territoire est divisé en quatre zones en fonction des paysages et des types d'agriculture pratiqués.

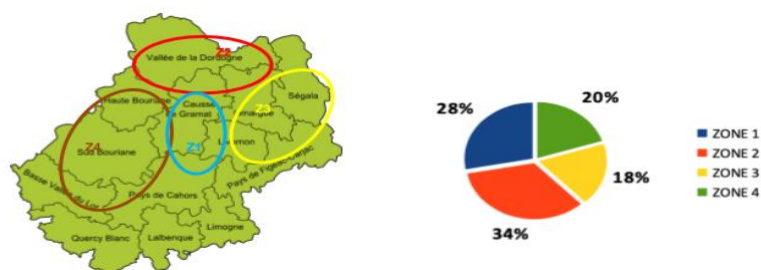


Figure 8 Répartition géographique des apiculteurs affiliés au RER

Zone 1 : Plateaux calcaires, causses de Martel et Gramat. L'activité agricole est centrée sur l'élevage ovin, végétation typique des sols karstiques.

Zone 2 : Vallée alluvionnaire de la Dordogne, encadrée au nord et au sud par des causses. Cette zone est le lieu d'une forte activité agricole, polycultures, mais surtout de vastes noyeraies.

Il existe dans cette zone un fort risque d'exposition aux produits phytosanitaires.

Zone 3 : Située à l'est de la vallée, le Limargue et le Segala renferment de nombreuses exploitations d'élevage bovin. Le risque dans cette zone proviendra de l'épandage de lisiers et/ou de digestats pouvant contenir un certain nombre de xénobiotiques.

Zone 4 : Située à l'ouest de la vallée, la Bouriane présente des paysages très boisés riches en châtaignés et pins maritimes

Le risque de contamination d'origine agricole semble plus élevé dans les zones 2 et 3. D'autre part les ruches peuvent être exposées à des traitements vétérinaires, qui dépendent uniquement des pratiques apicoles.

3) Prélèvement des échantillons

3.1 Miel

Spécificités de la matrice :

Le miel est une substance d'une importance capitale pour les abeilles car elle constitue la nourriture exclusive des travailleuses.

Lorsque les abeilles butinent, elles vont récolter du nectar, substance sucrée produite par la fleur pour attirer les pollinisateurs, ainsi que du miellat, une substance sécrétée par les pucerons. Les butineuses vont enrichir le nectar et le miellat en y apportant une enzyme, l'invertase, qui transforme le saccharose en glucose et fructose.

Le miel constitue un indicateur très important en ce qui concerne les risques de contamination en pesticides, en effet, cette matrice constitue l'alimentation exclusive des abeilles, ce qui les rend particulièrement vulnérables en cas de contamination. De plus, le miel est destiné à être consommé par l'homme, ce qui implique le respect des limites maximales de résidu (LMR) en ce qui concerne les substances pesticides.

Prélèvements :

77 échantillons de miel ont été récoltés chez 36 apiculteurs :

- *Année 2018* : 25 échantillons récoltés dans des pots ou des maturateurs.
- *Année 2019* : 52 échantillons récoltés sur les cadres de hausse, le jour de la récolte.

Répartition des échantillons par zone :

- 19 échantillons viennent de la zone 1 (25%)
- 25 échantillons viennent de la zone 2 (32%)
- 16 échantillons viennent de la zone 3 (21%)
- 17 échantillons viennent de la zone 4 (22%)

Les échantillons ont été placés dans des tubes « Falcon » de 25mL, enveloppés dans du papier aluminium, puis conservés au congélateur avant analyse.

3.2 Sirops et « Candi »

Spécificités de la matrice :

En cas de forte sécheresse, ou de manque de fleurs, il peut arriver que les abeilles se retrouvent en pénurie de miel, les apiculteurs complètent alors la ruche avec des sirop industriels ou des cristaux de saccharose « Candi ».

Les sirops sont vendus dans le commerce et sont constitués de divers sucres, majoritairement saccharose, fructose et glucose, dont les proportions varient selon les fabricants. Cette substance constitue un nourrissement d'appoint quelle que soit la saison, elle est directement stockée par les abeilles.

Les « candi » se présentent sous la forme de pâte blanche qui ne durcit et ne coule pas, cette nourriture est composée de **microcristaux de saccharose**, de sirop de glucose et de fructose. Cette substance est consommée directement par les abeilles, ce qui constitue un signal de reprise de l'activité, il est donc essentiel de n'appliquer le candi qu'en sortie de l'hiver.

Le RER organise des commandes groupées venant donc toutes du même fournisseur, mais des adhérents volontaires commandant chez d'autres fournisseurs ont également participé en fournissant des échantillons.

Prélèvements :

5 échantillons de Candi et 8 échantillons de Sirop ont été récoltés chez 9 apiculteurs :

-Année 2017 : Un échantillon de Candi de marque « ABEIFONDA »

-Année 2018 : Un échantillon de sirop de marque « APISTAR » et un échantillon de Candi de marque « APIFONDA » ont été fournis par le rucher école, ces échantillons sont issus d'une commande groupée.

-Année 2019 : Cinq échantillons de Sirop des marques « LEYGONIE », « APICOOP » et « APISTAR » ainsi que trois échantillons de Candi de marque « APIFONDA ».

-Année 2020 : Deux échantillons de sirop de marque « LEYGONIE ».

Des échantillons de 20g ont été placés dans des pots en plastique opaques de 20mL et conservés au congélateur avant analyse.

3.3 Pollen

Spécificités de la matrice :

Le pollen figure parmi les principaux aliments des abeilles il est donc un des principaux agents de transfert entre les substances appliquées sur les plantes et les abeilles. En butinant, les abeilles agglomèrent le pollen sous forme de volumineuses pelotes qu'elles disposent sur leurs pattes arrière. Pour récolter le pollen, des trappes à pollen sont disposées à l'entrée de la ruche, ce piège est constitué d'un peigne et d'une trappe, en traversant le peigne, les pelotes de pollen vont tomber dans la trappe.

Prélèvements :

Le pollen est une substance fragile et produite en petite quantité. Pour cette étude, nous avons demandé aux apiculteurs de prélever tous les 2 jours des échantillons puis de les

regrouper en échantillons mensuels.

8 échantillons de pollen ont été récoltés chez 4 apiculteurs :

-Année 2019 : un échantillon

-Entre mars et mai 2020 : recueil de 7 échantillons

Répartition des échantillons par zone :

-3 échantillons viennent de la zone 2 (38%)

-3 échantillons viennent de la zone 3 (38%)

-1 échantillon vient de la zone 4 (13%)

-1 échantillon est issu des zones 1 et 4 (13%)

Les échantillons de 10g ont été placés dans des pots en plastique opaques de 20mL et conservés au congélateur avant analyse.

3.4 Pain d'abeille

Spécificités de la matrice :

Le pain d'abeille est une substance élaborée par les abeilles en mélangeant du miel, du pollen ainsi que des ferments lactiques. Il est destiné à servir de nourriture aux larves.

Le prélèvement s'effectue en réalisant une section au niveau d'un cadre et en recueillant le contenu des alvéoles avec une cuillère.

Prélèvements :

27 échantillons de pain d'abeille ont été recueillis entre les mois de mars et mai 2020 chez 15 apiculteurs.

Répartition des échantillons par zone :

-11 échantillons viennent de la zone 1 (40%)

-4 échantillons viennent de la zone 2 (15%)

-4 échantillons viennent de la zone 3 (15%)

-3 échantillons viennent de la zone 4 (11%)

-3 échantillons sont issus des zones 1 et 2

-1 échantillon est issu des zones 1 et 4

Les échantillons de 20g ont été placés dans des pots en plastique opaques de 20mL et conservés au congélateur.

3.5 Abeilles

Spécificités de la matrice :

Les dosages chez les abeilles nous permettent d'étudier l'exposition chronique aux toxiques grâce au dosage sur des abeilles prélevées vivantes. Pour cette étude, nous avons demandé aux apiculteurs de prélever chaque mois un échantillon d'abeilles vivantes.

Prélèvements :

27 échantillons d'abeilles ont été prélevés entre mars et mai 2020 chez 15 apiculteurs

1 échantillon d'abeille retrouvées mortes devant la ruche a été incluse dans l'étude.

Répartition des échantillons par zone :

- 11 échantillons viennent de la zone 1 (40%)
- 4 échantillons viennent de la zone 2 (14%)
- 4 échantillons viennent de la zone 3 (14%)
- 3 échantillons viennent de la zone 4 (10%)
- 3 échantillons sont issus d'un mélange des zones 1 et 2
- 1 échantillon est issu des zones 1 et 4
- 1 échantillon issu des zones 2 et 3

Des échantillons de 20g ont été placés dans des pots en plastique opaques de 20mL et conservés au congélateur.

3.6 Cires

Spécificités de la matrice :

La cire est une matrice primordiale dans une logique de surveillance de la santé des abeilles, et pour cause elle constitue la structure même de la ruche, aussi elle est constamment en contact avec les abeilles, leurs larves ainsi que leur nourriture. Lors de cette étude, nous avons pu rechercher la présence de pesticides au sein de cires vierges achetées dans le commerce, ou gaufrées directement au rucher avec la cire des apiculteurs. Lors du gaufrage des cires au rucher, les cires sont mutualisées en deux groupes selon l'usage acaricide (groupe chimique) ou non (groupe non chimique) par l'apiculteur. D'autre part nous avons pu analyser des cires « sales » c'est-à-dire des cires ayant passé au moins un an au sein de la ruche. Ces analyses vont nous renseigner sur la contamination des cires industrielles par comparaison aux cires gaufrées « naturelles ». Nous pourrions également nous interroger sur l'accumulation de pesticides au sein de cette matrice.

Prélèvements :

54 échantillons de cire ont été prélevés parmi lesquels :

- 23 cires vierges venant du commerce
- 2 cires gaufrées « chimiques »
- 7 cires gaufrées « non chimiques »
- 22 cires « sales »

4) Préparation et analyse des échantillons

L'ensemble des méthodes de dosages de résidus de pesticides de l'UF de toxicologie environnementale du laboratoire sont accréditées selon la norme ISO 17025 (n° d'accréditation COFRAC 1-1373).

Les procédures détaillées sont confidentielles. Les paragraphes suivants ont pour objectifs de décrire brièvement ces méthodes accréditées.

4.1 Miel

Recherche des Dithiocarbamates :

Les dithiocarbamates sont des molécules aux propriétés fongicides, sous l'effet de la chaleur, elles se dégradent en disulfure de carbone (CS₂). C'est ce composé qui sera recherché et dosé.

L'analyse fait appel à une technique de chromatographie en phase gazeuse couplée à une détection en spectrométrie de masse avec espace de tête (GC-MS/MS).

Après hydrolyse acide d'un échantillon de 2g de miel à forte température, le CS₂ présent dans l'espace de tête est injecté puis dosé par chromatographie en phase gazeuse sur colonne capillaire.

La LDD et la LDQ de cette méthode sont respectivement de 3 et 5 ppb.

Recherche de « Chlorates et Glyphosate » :

Le chlorate, le perchlorate, le fosetyl-aluminium et le glyphosate ainsi que leurs dérivés sont inclus dans une méthode de chromatographie liquide couplée à la spectrométrie de masse en tandem (LC-MS/MS).

Un échantillon de 5g est extrait par du méthanol en milieu acide. Le surnageant est filtré puis injecté dans le système d'analyse.

La LDD et la LDQ de cette méthode sont respectivement de 3 et 5 ppb.

Recherche et dosage de pesticides par extraction QuEChERS en GC-MS/MS et LC-MS/MS ou « Méthode Multi-résidus » :

Acronyme de « Quick, Easy, Cheap, Effective, Rugged and Safe » la méthode QuEChERS est une méthode qui se veut rapide, facile, bon marché, robuste et fiable. Elle fut développée au début des années 2000 par Anastassiades et al.²³ pour la recherche des pesticides. Le principe de cette méthode repose sur une extraction dans deux phases, l'une aqueuse, et l'autre organique (acétonitrile), l'ajout d'un mélange de sels va permettre de « sécher » la phase aqueuse, et de concentrer les molécules dans la phase organique.

Cette étape d'extraction « QuEChERS » est suivie par des analyses en LC-MS/MS et GC-MS/MS.

Un échantillon de 5g est extrait par la méthode QuEChERS, le surnageant est injecté en LC-MS/MS, une étape d'évaporation de solvant et de reprise par acétate d'éthyle est ajoutée avant l'injection en GC-MS/MS.

La méthode multi-résidus permet la recherche de 320 molécules de pesticides (*Liste en annexe 2*). Elle est utilisée en routine pour le dosage des pesticides dans les fruits.

4.2 Pollen

Recherche et dosage de pesticides par extraction QuEChERS en GC-MS/MS et LC-MS/MS ou « Méthode Multi-résidus » :

Le pollen ne faisant pas partie a priori des matrices analysées au sein du laboratoire, il a fallu tout d'abord déterminer les conditions permettant de solubiliser le pollen avant extraction par les sels QuEChERS. Le pollen est une matrice constituée de protéines, de sucres et de lipides.

Nous avons obtenu de bons résultats en solubilisant notre échantillon avec de l'eau ultrapure ainsi que de l'hexane, d'après les travaux de López-Fernández et al. (2015)²⁴, Drummond et al (2018)²⁵ et Jiang et al. (2018)²⁶.

Après solubilisation dans l'eau ultrapure et l'hexane, un échantillon de 2g est extrait par la méthode QuEChERS, le surnageant est injecté en LC-MS/MS, une étape d'évaporation de solvant et de reprise par acétate d'éthyle est ajoutée avant l'injection en GC-MS/MS.

4.3 Pain d'abeille

Recherche et dosage de pesticides par extraction QuEChERS en GC-MS/MS et LC-MS/MS ou « Méthode Multi-résidus » :

Le pain d'abeille ne faisant pas partie a priori des matrices analysées au sein du laboratoire, il a fallu tout d'abord déterminer les conditions permettant de solubiliser les échantillons avant extraction par les sels QuEChERS.

Le pain d'abeille possède une composition assez proche du pollen (Daniele et al. 2017²⁷), nous avons donc réalisé des tests qui ont montré que le même protocole que celui appliqué aux pollens pouvait être utilisé.

Après solubilisation dans l'eau ultrapure et l'hexane, un échantillon de 2g est extrait par la méthode QuEChERS, le surnageant est injecté en LC-MS/MS, une étape d'évaporation de solvant et de reprise par acétate d'éthyle est ajoutée avant l'injection en GC-MS/MS.

4.4 Abeilles

Recherche et dosage de pesticides par extraction QuEChERS en GC-MS/MS et LC-MS/MS ou « Méthode Multi-résidus » :

Pour cette matrice, une étape préalable de broyage a été nécessaire pour homogénéiser les échantillons. D'autre part, la lecture des travaux de Daniele et al. (2017)²⁷, Kiljanek et al. (2016)²⁸, et Jabot et al. (2016)²⁹, a montré que l'analyse des abeilles était compatible avec la méthode QuEChERS. Cette conclusion a été confirmée par des tests en laboratoire.

Après solubilisation dans l'eau ultrapure et l'hexane, un échantillon de 2g est extrait par la méthode QuEChERS, le surnageant est injecté en LC-MS/MS, une étape d'évaporation de solvant et de reprise par acétate d'éthyle est ajoutée avant l'injection en GC-MS/MS.

4.5 Cires

Recherche et dosage de pesticides par extraction QuEChERS en GC-MS/MS et LC-MS/MS ou « Méthode Multi-résidus » :

En nous basant sur les travaux de Fulton et al. (2019)³⁰ les échantillons de 2g de cire sont solubilisés dans un mélange d'acétate d'éthyle et d'hexane, suite à cela, ils sont extraits par méthode QuEChERS, le surnageant est injecté en LC-MS/MS, une étape d'évaporation de solvant et de reprise par acétate d'éthyle est ajoutée avant l'injection en GC-MS/MS.

5) Analyse des résultats

Les données sont retraitées à l'aide du logiciel « Labsolution Insight ». Un échantillon est positif à un pesticide, si la dose retrouvée est au-delà de la limite de détection (LDD), soit 3ppb.

III) Résultats

1) Miel

Parmi les 77 échantillons de miel, nous avons détecté :

- Au moins un pesticide dans 46 échantillons (60%)
- Au moins 2 pesticides dans 21 échantillons (27%)
- Au moins 3 pesticides dans 4 échantillons (5%)

Six molécules ont été détectées : clodinafop, métamitron, piperonyl-Butoxide, DMF, DMPF (2 métabolites de l'amitraze), et des dithiocarbamates.

Les résultats sont présentés en détail dans les deux tableaux suivants :

Composés	Classe	Nombre d'échantillons positifs	Concentration minimum (ppm)	Concentration maximum (ppm)	Concentration médiane (ppm)	DL50 (voie orale)	DL50 (par contact)	LMR (ppm) ³¹
Clodinafop	Herbicide	26 (33%)	0.005	0.029	0.01	>100µg/abeille ³²	>100µg/abeille	0.05
Métamitron	Herbicide	19 (25%)	0.005	0.013	0.006	> 97.2 µg/abeille ³³	>100µg/abeille	-
DMF (Amitraze)	Acaricide	14 (18%)	0.005	0.021	0.009	-	2.55 µg/abeille ³⁴	0.2
DMPF (Amitraze)	Acaricide	5 (6%)	0.005	0.008	0.008	-	2.55 µg/abeille ³⁴	0.2
Dithiocarbamates	Fongicides	10 (13%)	>0.01	-	-	-	-	0.01
Piperonyl-Butoxide	Synergiste pyrethrinoid	1 (0.13%)	>0.005	-	-	2.77 µg/abeille ³⁵	-	-

Tableau 1 : Résultats de l'analyse des échantillons de miel (DMF: N,N-diméthylformamide, DMPF: N-(2,4-diméthylphényl)formamide)

Composés	Nombre d'échantillons positifs	Zone 1		Zone 2		Zone 3		Zone 4	
		Nombre d'échantillons positifs	Concentration moyenne (ppm)	Nombre d'échantillons positifs	Concentration moyenne (ppm)	Nombre d'échantillons positifs	Concentration moyenne (ppm)	Nombre d'échantillons positifs	Concentration moyenne (ppm)
Clodinafop	26	1 (4%)	0.016	9 (35%)	0.011	7 (27%)	0.011	9 (35%)	0.01
Métamitron	19	1 (5%)	0.008	7 (37%)	0.006	3 (16%)	0.008	8 (42%)	0.007
DMF	14	4 (29%)	0.007	6 (43%)	0.01	3 (21%)	0.006	1 (7%)	0.005
DMPF	5	2 (40%)	0.007	3 (60%)	0.005	-	-	-	-
Dithiocarbamates	10	2 (20%)	0.01	3 (30%)	0.01	3 (30%)	0.01	2 (20%)	0.01
Piperonyl-Butoxide	1	-	-	-	-	-	-	1	0.005
Proportion d'échantillons positifs* (%)		47		64		56		70	

Tableau 2 : Répartition des échantillons positifs par zone (DMF : N,N-diméthylformamide, DMPF: N-(2,4-diméthylphényl)formamide, *: proportion dans chaque zone d'échantillon étant positif à au moins un pesticide)

2) Sirops et Candi

Aucune molécule n'a été détectée au sein des matrices « Sirop » et « Candi ».

3) Pollen

Parmi les 8 échantillons de pollen, nous avons détecté :

- Au moins un pesticide dans 4 échantillons (50%)

Cinq molécules ont été détectées : Métamitron, Roténone, Cyfluthrine, Ethofenprox et Acrinathrine.

Les résultats sont présentés en détail dans les deux tableaux suivants :

Composés	Classe	Nombre d'échantillons positifs	Concentration minimum (ppm)	Concentration maximum (ppm)	Concentration médiane (ppm)	DL50 (voie orale)	DL50 (par contact)
Métamitron	Herbicide	1 (13%)	0.0043	-	-	> 97.2 µg/abeille ³³	>100µg/abeille
Roténone	Insecticide	1 (13%)	0.0045	-	-	>30 µg/abeille ³⁶	>60 µg/abeille
Cyfluthrine	Insecticide	1 (13%)	0.0031	-	-	< 0.025 µg/abeille ³⁷	< 0.025 µg/abeille
Ethofenprox	Insecticide	1 (13%)	0.0033	-	-	0.0238 µg/abeille ³⁸	0.0145 µg/abeille
Acrinathrine	Insecticide	1 (13%)	0.0032	-	-	-	-

Tableau 3 : Résultats de l'analyse des échantillons de pollen

Composés	Nombre d'échantillons positifs	Zone 1		Zone 2		Zone 3		Zone 4	
		Nombre d'échantillons positifs	Concentration moyenne (ppm)	Nombre d'échantillons positifs	Concentration moyenne (ppm)	Nombre d'échantillons positifs	Concentration moyenne (ppm)	Nombre d'échantillons positifs	Concentration moyenne (ppm)
Métamitron	1	1	0.0043	-	-	-	-	1	0.0043
Roténone	1	-	-	1	0.0045	-	-	-	-
Cyfluthrine	1	-	-	-	-	1	0.0031	-	-
Ethofenprox	1	-	-	-	-	1	0.0033	-	-
Acrinathrine	1	-	-	1	0.0032	-	-	-	-
Proportion d'échantillons positifs* (%)		100		67		33		50	

Tableau 4 : Répartition des échantillons positifs par zone (*: proportion dans chaque zone d'échantillon étant positif à au moins un pesticide)

4) Pain d'abeille

Parmi les 27 échantillons de pain d'abeille, nous avons détecté :

- Au moins un pesticide dans 11 échantillons (81%)
- 2 pesticides dans 7 échantillons (26%)
- 3 pesticides ou plus dans 5 échantillons (19%) dont 2 présentent 5 pesticides différents (7%)

Les molécules retrouvées sont présentées dans la figure suivante :

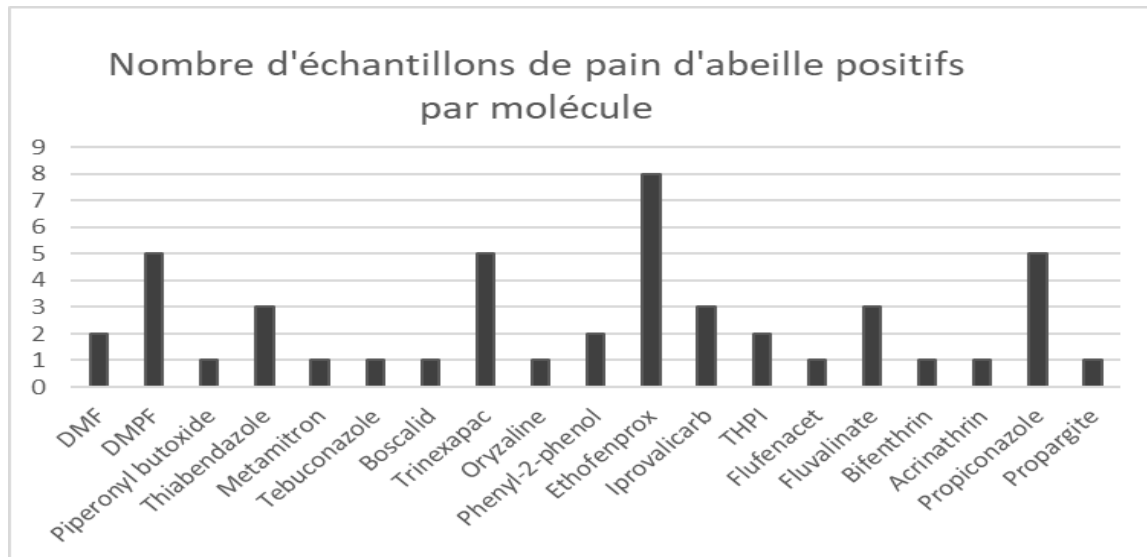


Figure 9 : Répartition des pesticides retrouvés au sein des échantillons de pain d'abeille (DMF : N,N-diméthylformamide, DMPF: N-(2,4-diméthylphényl)formamide, THPI : Tetrahydrophthalimide)

Les résultats sont présentés en détail dans les deux tableaux suivants :

Composés	Classe	Nombre d'échantillons positifs	Concentration minimum (ppm)	Concentration maximum (ppm)	Concentration médiane (ppm)	DL50 (voie orale)	DL50 (par contact)
DMF (Amitraze)	Acaricide	2 (7%)	0.084	0.125	0.105	-	2.55 µg/abeille ³⁴
DMPF (Amitraze)	Acaricide	5 (19%)	0.035	0.339	0.136	-	2.55 µg/abeille ³⁴
Piperonyl-Butoxide	Synergiste des pyrethrinoides	1 (4%)	0.01	-	-	2.77 µg/abeille ³⁵	-
Thiabendazole	Fongicide	3 (11%)	0.004	0.005	0.005	> 4,0 µg/abeille ³⁹	-
Métamitron	Herbicide	1 (4%)	0.004	-	-	> 97.2 µg/abeille ³³	>100µg/abeille
Tebuconazole	Fongicide	1 (4%)	0.007	-	-	176.0 µg/abeille ⁴⁰	176.0 µg/abeille
Boscalid	Fongicide	1 (4%)	0.01	-	-	166.0 µg/abeille ⁴¹	200.0 µg/abeille
Trinexapac	Régulateur de croissance des végétaux	5 (19%)	0.02	0.08	0.06	200.0 µg/abeille ⁴²	200.0 µg/abeille
Oryzaline	Herbicide	1 (4%)	0.004	-	-	-	11.0 µg/abeille ⁴³
Phenyl-2-phenol	Fongicide	2 (7%)	0.007	0.057	0.032	-	-
Ethofenprox	Insecticide	8 (30%)	0.003	0.013	0.006	0.0238 µg/abeille ³⁸	0.0145 µg/abeille
Iprovalicarb	Fongicide	3 (11%)	0.004	0.008	0.005	200µg/abeille ⁴⁴	199 µg/abeille
THPI	Fongicide	2 (7%)	0.022	0.027	0.025	-	-
Flufenacet	Herbicide	1 (4%)	0.007	-	-	>170µg/abeille ⁴⁵	>194 µg/abeille
Fluvalinate	Acaricide	3 (11%)	0.016	0.432	0.037	-	12 µg/abeille ³⁴
Bifenthrine	Acaricide	1 (4%)	0.003	-	-	0.1 µg/abeille ⁴⁶	0.015 µg/abeille
Acrinathrine	Insecticide	1 (4%)	0.007	-	-	-	-
Propargite	Insecticide	5 (18%)	0.004	0.013	-	47.9 µg/abeille ⁴⁷	>100 µg/abeille
Propicanazole	Fongicide	1 (4%)	0.016	-	-	>100µg/abeille ⁴⁸	>100µg/abeille

Tableau 5 : Résultats de l'analyse des échantillons de pain d'abeille (**DMF** : N,N-diméthylformamide, **DMPF**: N-(2,4-diméthylphényl)formamide, **THPI** : Tetrahydrophthalimide)

Composés	Nombre d'échantillons positifs	Zone 1		Zone 2		Zone 3		Zone 4	
		Nombre d'échantillons positifs	Concentration moyenne (ppm)	Nombre d'échantillons positifs	Concentration moyenne (ppm)	Nombre d'échantillons positifs	Concentration moyenne (ppm)	Nombre d'échantillons positifs	Concentration moyenne (ppm)
DMF	2	1	0.1248	-	-	-	-	1	0.084
DMPF	5	2	0.085	-	-	-	-	3	0.206
Piperonyl-Butoxide	1	1	0.01	-	-	-	-	-	-
Thiabendazole	3	1	0.0047	-	-	1	0.004	1	0.005
Métamitron	1	-	-	-	-	-	-	1	0.004
Tebuconazole	1	-	-	-	-	-	-	1	0.007
Boscalid	1*	1	0.01	1	0.01	-	-	-	-
Trinexapac	5*	2 +0.5	0.056	2	0.04	-	-	0.5	0.031
Oryzaline	1	1	0.004	-	-	-	-	-	-
Phenyl-2-phenol	2*	1 +0.5	0.033	0.5	0.007	-	-	-	-
Ethofenprox	8*	3 +0.5	0.005	2 +0.5	0.008	-	-	2	0.01
Iprovalicarb	3*	2 +0.5	0.006	0.5	0.008	-	-	-	-
THPI	2	2	0.024	-	-	-	-	-	-
Flufenacet	1	1	0.007	-	-	-	-	-	-
Fluvalinate	3	2	0.027	1	0.016	-	-	1 +1	0.234
Bifenthrine	1	-	-	-	-	1	0.003	-	-
Acrinathrine	1	-	-	-	-	-	-	1	0.007
Propicanazole	1	-	-	-	-	-	-	1	0.016
Propargite	5*	2 +0.5	0.008	2 +0.5	0.012	-	-	-	-
Proportion d'échantillons positifs** (%)		81		75		50		100	

Tableau 6 : Répartition des échantillons positifs par zone (**DMF** : N,N-diméthylformamide, **DMPF**: N-(2,4-diméthylphényl)formamide, **THPI** : Tetrahydrophthalimide, * : effectif regroupant des échantillons issus de deux zones différentes, **: proportion dans chaque zone d'échantillon étant positif à au moins un pesticide)

NB* : Certains apiculteurs ayant des ruches dans différentes zones ont pu réaliser des mélanges d'échantillons provenant de leurs différentes ruches, c'est pourquoi certains échantillons nous ont été présenté comme provenant de deux zones. Dans ce cas, les échantillons concernés sont identifiés par la mention (+0.5) dans les cases correspondant aux deux zones concernées. Ces échantillons sont pris en compte dans l'évaluation du nombre de positif par zone et dans le calcul des concentrations moyennes.

5) Abeilles

Parmi les 28 échantillons d'abeille, nous avons détecté :

- Au moins un pesticide dans 13 échantillons (46%)
- 2 pesticides dans 3 échantillons (11%)

7 molécules différentes ont été retrouvées : Chlorantraniliprole, Prochloraz, Prohexadione Ca, Thiophanate-methyl, Trinexapac, THPI, Dieldrine.

Les résultats sont présentés en détails dans les deux tableaux suivants :

Composés	Classe	Nombre d'échantillons positifs	Concentration minimum (ppm)	Concentration maximum (ppm)	Concentration médiane (ppm)	DL50 (voie orale)	DL50 (par contact)
Chlorantraniliprole	Insecticide	1 (4%)	0.005	-	-	>4 µg/abeille ⁴⁹	>104 µg/abeille
Prochloraz	Fongicide	1 (4%)	0.003	-	-	684 µg/abeille ⁵⁰	14.9 µg/abeille
Prohexadione Ca	Regulateur de croissance des végétaux	6 (21%)	0.004	0.056	0.029	100 µg/abeille ⁵¹	100 µg/abeille
Thiophanate-methyl	Fongicide	2 (7%)	0.004	0.005	0.005	>100µg/abeille ⁵²	>100µg/abeille
Trinexapac	Regulateur de croissance des végétaux	4 (14%)	0.006	0.329	0.024	200.0 µg/abeille ⁴²	200.0 µg/abeille
THPI	Fongicide	1 (4%)	0.083	-	-	-	-
Dieldrine	Insecticide	1 (4%)	0.0163	-	-	-	-

Tableau 7 : Résultats de l'analyse des échantillons d'abeille (THPI : Tetrahydrophthalimide)

Composés	Nombre d'échantillons positifs	Zone 1		Zone 2		Zone 3		Zone 4	
		Nombre d'échantillons positifs	Concentration moyenne (ppm)	Nombre d'échantillons positifs	Concentration moyenne (ppm)	Nombre d'échantillons positifs	Concentration moyenne (ppm)	Nombre d'échantillons positifs	Concentration moyenne (ppm)
Chlorantraniliprole	1	1	0.0045	-	-	-	-	-	-
Prochloraz	1	1	0.003	-	-	-	-	-	-
Prohexadione Ca*	6	3 +0.5 +0.5	0.035	0.5	0.037	-	-	1 +0.5	0.017
Thiophanate-methyl *	2	1 +0.5	0.004	0.5	0.004	-	-	-	-
Trinexapac	4	4	0.096	-	-	-	-	-	-
THPI	1	1	0.082	-	-	-	-	-	-
Dieldrine	1	-	-	-	-	-	-	1	0.016
Proportion d'échantillons positifs** (%)		80		25				50	

Tableau 8 : Répartition des échantillons positifs par zone (THPI : Tetrahydrophthalimide, * : effectif regroupant des échantillons issus de deux zones différentes, ** : proportion dans chaque zone)

NB* : Certains apiculteurs ayant des ruches dans différentes zones ont pu réaliser des mélanges d'échantillons provenant de leurs différentes ruches, c'est pourquoi certains échantillons nous ont été présenté comme provenant de deux zones. Dans ce cas, les échantillons concernés sont identifiés par la mention (+0.5) dans les cases correspondant aux deux zones concernées. Ces échantillons sont pris en compte dans l'évaluation du nombre de positif par zone et dans le calcul des concentrations moyennes.

6) Cires

Parmi les 54 échantillons de cire, nous avons détecté :

- Au moins un pesticide dans 41 échantillons (76%)
- Au moins 2 pesticides dans 24 échantillons (44%)
- Plus de 3 pesticides dans 9 échantillons (17%)

12 molécules différentes ont été retrouvées : amétryne, bifenthrine, bromopylate, chlorbenzilate, diclofol, dimoxystrobine, DMF, DMPF, fluvalinate, lindane, propargite et propiconazole.

Pour les besoins de l'étude, nous avons analysé séparément les 54 échantillons selon qu'ils provenaient de cires vierges du commerce, de cires prélevées dans les ruches ou de cires gaufrées.

Sur les 23 échantillons de **cire du commerce** nous avons retrouvé :

- Au moins un pesticide dans 21 échantillons (91%)
- Deux pesticides dans 9 échantillons (39%)
- Trois pesticides ou plus dans 5 échantillons (22%)

Les résultats sont présentés en détail dans le tableau suivant :

Composés	Classe	Nombre d'échantillons positifs	Concentration minimum (ppm)	Concentration maximum (ppm)	Concentration médiane (ppm)	DL50 (voie orale)	DL50 (par contact)
Amétryne	Herbicide	1 (4%)	0.004	-	-	>100µg/abeille ⁵³	-
Bifenthrine	Acaricide	1 (4%)	0.034	-	-	0.1 µg/abeille ⁴⁶	0.015 µg/abeille ⁴⁶
Bromopropylate	Acaricide	3 (13%)	0.012	0.133	0.112	-	-
Chlorbenzilate	Acaricide	3 (13%)	0.021	0.15	0.06	1.01 µg/abeille ⁵⁴	1.01 µg/abeille ⁵⁴
Diclofol	Acaricide	1 (4%)	0.01	-	-	>0,05mg/abeille ⁵⁵	>0,05 mg/abeille ⁵⁵
Dimoxystrobine	Fongicide	1 (4%)	0.008	-	-	79.4 µg/abeille ⁵⁶	-
DMF (Amitraze)	Acaricide	3 (13%)	0.043	0.179	0.097	-	2.55 µg/abeille ³⁴
Fluvalinate	Acaricide	20 (87%)	0.044	0.73	0.29	-	12 µg/abeille ³⁴
Lindane	Insecticide	4 (17%)	0.006	0.034	0.021	0.011 µg/abeille ⁵⁷	0.23 µg/abeille ⁵⁷
Propargite	Insecticides	4 (17%)	0.1	0.13	0.11	47.9 µg/abeille ⁴⁷	>100 µg/abeille
Propiconazole	Fongicides	1 (4%)	0.05	-	-	>100µg/abeille ⁴⁸	>100µg/abeille ⁴⁸

Tableau 9: Résultats de l'analyse des échantillons de cire du commerce

Sur les 7 échantillons de cires gaufrées « non chimique » nous avons retrouvé :

- 100% des échantillons positifs à au moins un pesticide
- Deux pesticides dans 3 échantillons (29%)
- Trois pesticides dans 3 échantillons (43%)

Les résultats sont présentés en détail dans le tableau suivant :

<i>Composés</i>	<i>Classe</i>	<i>Nombre d'échantillons positifs</i>	<i>Concentration minimum (ppm)</i>	<i>Concentration maximum (ppm)</i>	<i>Concentration médiane (ppm)</i>	<i>DL50 (voie orale)</i>	<i>DL50 (par contact)</i>
Bifenthrine	Acaricide	1 (14%)	0.021	-	-	0.1 µg/abeille ⁴⁶	0.015 µg/abeille ⁴⁶
Diclofol	Acaricide	1 (14%)	0.011	-	-	>0,05mg/abeille ⁵⁵	>0,05 mg/abeille ⁵⁵
DMF (Amitraze)	Acaricide	5 (71%)	0.041	0.133	0.057	-	2.55 µg/abeille ³⁴
DMPF (Amitraze)	Acaricide	1 (14%)	0.008	-	-	-	2.55 µg/abeille ³⁴
Fluvalinate	Acaricide	5 (71%)	0.044	0.429	0.129	-	12 µg/abeille ³⁴
Lindane	Insecticide	2 (29%)	0.01	0.016	0.013	0.011 µg/abeille ⁵⁷	0.23 µg/abeille ⁵⁷
Propiconazole	Fongicides	2 (29%)	0.05	0.057	0.054	>100µg/abeille ⁴⁸	>100µg/abeille ⁴⁸

Tableau 10 Résultats de l'analyse des échantillons de cire gaufrées "non chimiques"

Sur les deux échantillons de cires gaufrées « chimique » nous avons retrouvé :

- 100% des échantillons positifs à au moins un pesticide
- Deux pesticides dans un échantillon (50%)
- Trois pesticides dans un échantillon (50%)

Les résultats sont présentés en détail dans le tableau suivant :

<i>Composés</i>	<i>Classe</i>	<i>Nombre d'échantillons positifs</i>	<i>Concentration minimum (ppm)</i>	<i>Concentration maximum (ppm)</i>	<i>Concentration médiane (ppm)</i>	<i>DL50 (voie orale)</i>	<i>DL50 (par contact)</i>
Diclofol	Acaricide	1 (50%)	0.009	-	-	>0,05mg/abeille ⁵⁵	>0,05 mg/abeille ⁵⁵
DMF (Amitraze)	Acaricide	2 (100%)	0.054	0.071	0.063	-	2.55 µg/abeille ³⁴
Fluvalinate	Acaricide	1 (50%)	0.114	-	-	-	12 µg/abeille ³⁴
Lindane	Insecticide	2 (100%)	0.044	0.128	0.086	0.011 µg/abeille ⁵⁷	0.23 µg/abeille ⁵⁷

Tableau 11 Résultats de l'analyse des échantillons de cire gaufrée "chimiques"

Sur les 22 échantillons de **cire « sales »** nous avons retrouvé :

- Au moins un pesticide dans 8 échantillons (36%)
- Deux pesticides ou plus dans 3 échantillons (14%)

Les résultats sont présentés en détail dans les tableaux suivants :

Composés	Classe	Nombre d'échantillons positifs	Concentration minimum (ppm)	Concentration maximum (ppm)	Concentration médiane (ppm)	DL50 (voie orale)	DL50 (par contact)
Bromopropylate	Acaricide	1 (7%)	0.03	-	-	-	-
DMF (Amitraze)	Acaricide	2 (9%)	0.034	0.44	0.039	-	2.55 µg/abeille ³⁴
DMPF (Amitraze)	Acaricide	2 (9%)	0.007	0.018	0.013	-	2.55 µg/abeille ³⁴
Fluvalinate	Acaricide	6 (27%)	0.157	0.77	0.192	-	12 µg/abeille ³⁴

Tableau 12 Résultats de l'analyse des échantillons de cire prélevés dans les ruches

Composés	Nombre d'échantillons positifs	Zone 1		Zone 2		Zone 3		Zone 4	
		Nombre d'échantillons positifs	Concentration moyenne (ppm)	Nombre d'échantillons positifs	Concentration moyenne (ppm)	Nombre d'échantillons positifs	Concentration moyenne (ppm)	Nombre d'échantillons positifs	Concentration moyenne (ppm)
Bromopylate	1	1	0.03	-	-	-	-	-	-
DMF (Amitraze)*	2	0.5	0.044	-	-	1+0.5	0.039	-	-
DMPF (Amitraze)	2	-	-	-	-	1	0.018	1	0.007
Fluvalinate*	6	2 +0.5 +0.5 +0.5	0.26	1 +0.5 +0.5	0.372	0.5	0.23	-	-
Proportion d'échantillons positifs* (%)		22		14		18		5	

Tableau 13 Répartition des échantillons positifs par zone (* : effectif regroupant des échantillons issus de deux zones différentes, **: proportion dans chaque zone)

NB* : Certains apiculteurs ayant des ruches dans différentes zones ont pu réaliser des mélanges d'échantillons provenant de leurs différentes ruches, c'est pourquoi certains échantillons nous ont été présenté comme provenant de deux zones. Dans ce cas, les échantillons concernés sont identifiés par la mention (+0.5) dans les cases correspondant aux deux zones concernées. Ces échantillons sont pris en compte dans l'évaluation du nombre de positif par zone et dans le calcul des concentrations moyennes.

IV) Discussion

Dans de cette étude, nous avons analysé la plupart des matrices présentes dans les ruches à la recherche de pesticides. Nous avons eu la chance de travailler en lien avec un réseau bien structuré d'apiculteurs très sensibles aux questions d'écotoxicologie. Ceci nous a permis de collecter un nombre conséquent d'échantillons avec, notamment, une cartographie des différents territoires pouvant permettre de comparer l'exposition des ruches aux activités humaines alentours.

Des études similaires ont été effectuées, de façon non exhaustive, on peut citer les travaux de A.I.García-Valcárcel et al. (2016)⁵⁸ en Espagne, de Kiljanek et al. (2016)²⁸ en Pologne, de Fulton et al. (2019)⁵⁹ aux Etats-Unis ou de Bommuraj et al. (2019)⁶⁰ en Israël.

Pour mettre en perspective mes résultats, je me suis intéressé aux études de Daniele et al. (2017)²⁷ et Chauzat et al. (2010)⁶¹ qui ont été menées en France. Dans la première étude, des analyses ont été conduites sur 488 échantillons d'abeilles, de pains d'abeille et de cires collectés entre 2012 et 2016 (sur tout le territoire français, d'après les auteurs, mais sans précision). Cette étude ne comportait donc pas d'analyse d'échantillons de miel. Dans la seconde, les analyses portaient sur des échantillons d'abeilles, de pollens, de miels et de cires obtenus sur 24 sites différents, dans 5 départements, entre 2002 et 2005. Dans l'étude de Daniele et al. (2017)²⁷, les méthodes analytiques mises en œuvre ont permis de rechercher 13 analytes. Dans l'étude de Chauzat et al. (2010)⁶¹, un total de 44 molécules était recherché. Dans notre étude, nous avons mis en œuvre une méthode multi-résidus permettant de rechercher 320 molécules, ainsi que deux autres méthodes ciblant 5 autres molécules.

Les 2 études ont montré que les matrices étaient toutes contaminées, à des degrés divers. Dans l'étude de Daniele et al. (2017)²⁷, 38% des échantillons d'abeille étaient positifs à au moins un pesticide, ce chiffre était de 45% dans l'étude de Chauzat et al.(2010)⁶¹. Dans notre étude, nous avons retrouvé 46 % d'échantillons positifs à des insecticides, des fongicides et des régulateurs de croissance. En ce qui concerne les échantillons de pollen, 69,5% des échantillons (environ 200 échantillons analysés) étaient positifs dans l'étude de Chauzat et al.(2010)⁶¹. Dans notre étude, nous ne disposions que de 8 échantillons de pollen (denrée rare pour les ruches, dont nous étions convenus avec les apiculteurs de ne nous la fournir qu'en cas de production excédentaire). Toutefois, nous avons détecté au moins un pesticide dans un échantillon sur deux. Dans l'étude de Chauzat, 43% des échantillons de miel étaient positifs (n=239), contre 60% des échantillons de notre étude (n=77) dans lesquels nous avons retrouvé des acaricides, des fongicides et des herbicides. En ce qui concerne les pains d'abeille, cette matrice est décrite comme étant la plus polluée dans l'étude de Daniele²⁷, avec 77% d'échantillons positifs à au moins un pesticide (n=273) et 12 pesticides différents détectés. Dans notre étude, 81 % des échantillons de pains d'abeille étaient positifs à au moins un pesticide et, comme dans l'étude de Daniele et al. (2017)²⁷, c'est dans cette matrice que nous avons détecté le plus grand nombre de molécules : 19 molécules différentes, ce qui semble confirmer un tropisme particulier de certains pesticides pour cette matrice. A notre avis, ce nombre élevé de molécules peut au moins s'expliquer par la présence de cire au sein des pains d'abeille qui favorise la présence de molécules lipophiles comme le tébuconazole (LogP : 3.7) ou le boscalid (logP : 2.96). L'étude de Daniele et al. (2017)²⁷ s'est également intéressée à l'analyse de cires et a détecté des pesticides dans 61% des échantillons. D'après les auteurs,

les concentrations retrouvées étaient plus élevées que dans les autres matrices. Dans notre étude 76% des échantillons de cires étaient positifs à au moins une molécule de pesticide, ce chiffre passe de 91% des échantillons pour les cires du commerce avant insertion dans les ruches à 36% des échantillons pour les cires prélevées dans les ruches. Les cires de ruche présentent en outre une faible diversité de molécules, 4 au total, alors que les cires du commerce ont permis de détecter 11 molécules différentes majoritairement des acaricides (6 molécules sur 11). Ces résultats posent question, notamment sur la possibilité que les industriels traitent leurs cires avec des acaricides pour diminuer l'impact du Varroa sur les colonies. Si tel était le cas, les apiculteurs devraient pouvoir en être informés pour éviter un surtraitement des colonies pouvant nuire aux insectes. Cependant mon propos se doit d'être pondéré et loin d'établir des conclusions, je ne peux que souhaiter la réalisation d'études complémentaires.

Dans les deux études françaises, les molécules les plus fréquemment détectées étaient les néonicotinoïdes (NN), les pyréthrinoïdes et le boscalid. L'usage des NN est interdit depuis le 1^{er} septembre 2018 et la « loi pour la reconquête de la biodiversité de la nature et des paysages ». Nous avons toutefois recherché la présence de ces molécules dans toutes les matrices et n'en avons détecté aucune. Concernant les pyréthrinoïdes, trois molécules ont été retrouvées, la cyfluthrine, l'acrinathrine et la bifenthrine ; mais contrairement aux études précédemment citées, leur présence ne concernait qu'une très faible proportion des échantillons.

Au vu des résultats de ces études, il semble que le « parc » des pesticides ait beaucoup évolué en quelques années, certaines molécules ont disparu, notamment grâce à l'évolution de la réglementation, mais de nouvelles molécules peuvent arriver sur le marché, d'où l'importance d'études régulières pour suivre l'évolution des expositions environnementales dues aux pesticides. Cependant, suite à la réintroduction des NN en France pour les cultures de betteraves, il conviendra de surveiller avec attention la possible résurgence de ces molécules au sein des ruches.

Les concentrations observées dans les échantillons de miel que nous avons analysés sont toutes inférieures aux limites maximales de résidus (LMR) imposées aux produits alimentaires. Ainsi, au sens de la législation, la présence des pesticides que nous avons mise en évidence ne présenterait donc pas de danger pour l'Homme.

Nous avons également tenté d'estimer si les quantités de pesticides mesurées dans les échantillons d'abeilles étaient supérieures aux DL50 connues. En considérant qu'une abeille pèse en moyenne 50 mg, les concentrations mesurées dans les échantillons positifs ne semblent pas correspondre à des valeurs toxiques.

De même, en considérant qu'une colonie d'abeilles comporte en moyenne 50 000 individus et qu'une colonie consomme en moyenne 85kg de miel par an⁶², on peut estimer qu'une abeille consomme environ 5 mg de miel par jour. En nous basant sur leurs concentrations mesurées en pesticides, nous estimons que les échantillons de miel que nous avons analysés n'étaient pas susceptibles d'entraîner une intoxication aiguë chez les abeilles.

Le risque pour les abeilles pourrait cependant être celui d'une exposition chronique à des niveaux sub-létaux de pesticides. Des caractéristiques physiologiques de l'abeille expliquent en partie cette crainte. En effet, elles possèdent une plus faible diversité de cytochromes que

d'autres insectes. Par exemple, l'étude de Berenbaum et al. (2015)⁶³ montre que le CYP450 représente 46 gènes chez l'abeille alors que la drosophile en compte 85. Cependant, ces auteurs ont montré que les DL50 de plusieurs pesticides n'étaient pas plus faibles chez l'abeille, suggérant ainsi que le nombre de gènes codant pour les enzymes de détoxification n'ait pas d'incidence sur la toxicité directe des pesticides. Cependant cette faible diversité pourrait induire chez l'abeille une sensibilité accrue aux « effets cocktails » qui favorisent les risques de compétition enzymatique au niveau des cytochromes. L'effet inhibiteur enzymatique chez l'abeille ne doit pas être considéré comme marginal, car de nombreuses molécules sont des inhibiteurs enzymatiques : les antifongiques de la classe des azolés, par exemple, dont nous avons retrouvé des traces dans les échantillons de pain d'abeille (tébuconazole et propiconazole). De plus, une étude menée par Gashout et al. (2018) a montré que l'exposition des abeilles à des molécules acaricides induisait une inhibition du CYP9Q3. Ceci pose question quand on sait que ces molécules sont largement utilisées dans le contexte de lutte contre le « *Varroa destructor* ».

Comme nous l'avons vu plus haut, notre étude montre que le pain d'abeille est une matrice capable d'accumuler de nombreux pesticides. Or, cette matrice est destinée à servir de nourriture aux larves. Ainsi, des effets sub-létaux dus à l'exposition chronique des larves pourrait fragiliser la colonie entière et remettre en cause sa pérennité. Malheureusement, la littérature scientifique est pauvre en ce qui concerne les risques sub-létaux, les effets cocktails, et la toxicité des pesticides pour les larves. C'est pourquoi ces questions mériteraient de faire l'objet de plus de recherches à l'avenir.

Lors de la mise en place de notre étude, nous nous sommes attachés à définir une cartographie précise des lieux de prélèvements des produits apicoles puis à définir les types d'activités humaines se trouvant aux alentours. Schématiquement, deux zones essentiellement consacrées aux élevages ovins (zone 1) et bovins (zone 3), une zone boisée (zone 4) qui théoriquement n'est que peu exposée aux pesticides, et une zone de polycultures préfigurant a priori une « zone à risque » (zone 2).

D'après Mitchell et al. (2017)⁶⁴ les abeilles possèdent un rayon de butinage de 4km autour de leur ruche. Ainsi, les pesticides détectés dans une ruche ne reflètent pas forcément les pesticides appliqués dans leur environnement le plus proche. Nos résultats semblent confirmer cette hypothèse. En effet, dans notre étude, les proportions des matrices apicoles contaminées par au moins un pesticide n'étaient pas significativement différentes d'une zone géographique à l'autre. Dans les 4 zones, nous avons retrouvés de 0,53 à 1,24 pesticide par échantillon de miel. Paradoxalement, il semblerait que la zone 4, c'est-à-dire la zone boisée la moins exposée a priori, soit finalement celle où nous avons décelé le plus de pesticides. On peut émettre l'hypothèse que le nombre d'échantillons dont nous disposions n'est pas été suffisant pour conclure avec certitude sur ce point.

V) Conclusion

Si notre étude peut souffrir de la comparaison avec deux études françaises réalisées au cours de la dernière décennie en termes d'échantillons analysés, elle a permis toutefois de rechercher la présence de résidus de pesticides dans de multiples matrices apicoles, y compris

les produits de nourrissage et les abeilles. D'autre part, menée en collaboration étroite avec les apiculteurs, elle a permis d'obtenir un lien précis entre chaque échantillon et les activités humaines proches de la ruche dont il était issu. D'autre part, le laboratoire d'analyse du CHU de Limoges dispose de méthodes analytiques ayant permis de rechercher, et doser si nécessaire, des centaines de molécules différentes pour chaque matrice.

Conformément aux études précédentes, nous avons détecté de nombreux produits appartenant aux classes des antifongiques, des herbicides et des insecticides, dont les acaricides. Ces derniers, comme l'amitraz et le fluvalinate sont utilisés par certains apiculteurs pour lutter contre le *Varroa destructor*. Nous n'avons décelé aucune molécule dans les produits commerciaux servant au nourrissage. Notons également que nous n'avons décelé aucune de trace glyphosate (ou de ses produits de dégradation) dans les échantillons analysés, quelle que soit leur nature.

Sur un plan sanitaire, les molécules qui ont été mises en évidence n'étaient présentes qu'à des concentrations très faibles, inférieures aux LMR, écartant tout risque majeur chez le consommateur. Toutefois, nous avons mis en évidence une exposition non négligeable chez les abeilles : au moins un pesticide chez près d'une abeille sur deux. Si les concentrations mesurées sont faibles et si les connaissances actuelles ne permettent pas de les interpréter, cette présence participe peut-être, au moins en partie, à la fragilité des colonies que les apiculteurs observent ces dernières années.

BIBLIOGRAPHIE

- (1) FABRE Marine. Thèse Pour Le Diplôme d'État de Docteur En Pharmacie: NEONICOTINOÏDES ET PRODUITS APICOLES, 2019.
- (2) Qu'est ce qu'un insecte : Définition <https://passion-entomologie.fr/definition-insecte/> (accessed Oct 25, 2020).
- (3) Schéma appareil buccal de l'abeille (10) | Download Scientific Diagram https://www.researchgate.net/figure/Schema-appareil-buccal-de-labeille-10_fig6_339816479 (accessed Nov 11, 2020).
- (4) Clément et al. « *Le Traité Rustica de l'apiculture* » 2e Édition, Rustica Éditions.
- (5) Xenobiotic detoxification pathways in honey bees - PubMed <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/29588014/> (accessed Oct 27, 2020).
- (6) A deficit of detoxification enzymes: pesticide sensitivity and environmental response in the honeybee <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC1761136/> (accessed Oct 27, 2020).
- (7) Hardstone, M.; Scott, J. Is *Apis Mellifera* More Sensitive to Insecticides than Other Insects? *Pest management science* **2010**, 66, 1171–1180. <https://doi.org/10.1002/ps.2001>.
- (8) Mao, W.; Schuler, M. A.; Berenbaum, M. R. Disruption of Quercetin Metabolism by Fungicide Affects Energy Production in Honey Bees (*Apis Mellifera*). *Proc Natl Acad Sci U S A* **2017**, 114 (10), 2538–2543. <https://doi.org/10.1073/pnas.1614864114>.
- (9) Ecologically Appropriate Xenobiotics Induce Cytochrome P450s in *Apis mellifera* <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3272026/> (accessed Oct 28, 2020).
- (10) Schmehl, D. R.; Teal, P. E. A.; Frazier, J. L.; Grozinger, C. M. Genomic Analysis of the Interaction between Pesticide Exposure and Nutrition in Honey Bees (*Apis Mellifera*). *J. Insect Physiol.* **2014**, 71, 177–190. <https://doi.org/10.1016/j.jinsphys.2014.10.002>.
- (11) Changes in the Gene Expression Profiles of the Hypopharyngeal Gland of Worker Honeybees in Association with Worker Behavior and Hormonal Factors - PubMed <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/26083737/> (accessed Oct 28, 2020).
- (12) Explication du cycle de vie des abeilles <https://www.apiculture.net/blog/cycle-vie-abeilles-n38> (accessed Nov 11, 2020).
- (13) Potts, S. G.; Imperatriz-Fonseca, V. L.; Ngo, H. T.; Biesmeijer, J. C.; Breeze, T. D.; Dicks, L. V.; Garibaldi, L. A.; Hill, R.; Settele, J.; Vanbergen, A. J. *The assessment report on pollinators, pollination and food production: summary for policymakers*; 2016.
- (14) Comment lutter efficacement contre le déclin des abeilles ? http://www.senat.fr/rap/r16-474/r16-474_mono.html (accessed Apr 30, 2020).

- (15) Laurent, M.; Hendrikx, P.; Ribiere-Chabert, M.; Chauzat, M.-P. This Report Has Been Prepared By. **2016**, 44.
- (16) Potts, S. G.; Imperatriz-Fonseca, V. L.; Ngo, H. T.; Biesmeijer, J. C.; Breeze, T. D.; Dicks, L. V.; Garibaldi, L. A.; Hill, R.; Settele, J.; Vanbergen, A. J. *The assessment report on pollinators, pollination and food production: summary for policymakers*; 2016.
- (17) À quoi servent les abeilles ? | INRAE INSTIT <https://www.inrae.fr/actualites/quoi-servent-abeilles> (accessed Mar 26, 2020).
- (18) Hendrikx, P.; Chauzat, M.-P.; Debin, M.; Neuman, P.; Fries, I.; Ritter, W.; Brown, M.; Mutinelli, F.; Conte, Y. L.; Gregorc, A. Bee Mortality and Bee Surveillance in Europe. *EFSA Supporting Publications* **2009**, 6 (9), 27E. <https://doi.org/10.2903/sp.efsa.2009.EN-27>.
- (19) Loi dérogation utilisation pesticides néonicotinoïdes betteraves | Vie publique.fr <https://www.vie-publique.fr/loi/276032-loi-derogation-utilisation-pesticides-neonicotinoides-betteraves> (accessed Oct 25, 2020).
- (20) *Arrêté Du 28 Novembre 2003 Relatif Aux Conditions d'utilisation Des Insecticides et Acaricides à Usage Agricole En Vue de Protéger Les Abeilles et Autres Insectes Pollinisateurs.*
- (21) Règlement (CE) no 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. 50.
- (22) Guidance on the Risk Assessment of Plant Protection Products on Bees (*Apis Mellifera*, *Bombus* Spp. and Solitary Bees). *EFSA Journal* **2013**, 11 (7), 3295. <https://doi.org/10.2903/j.efsa.2013.3295>.
- (23) Anastassiades, M.; Lehotay, S. J.; Stajnbaher, D.; Schenck, F. J. Fast and Easy Multiresidue Method Employing Acetonitrile Extraction/Partitioning and “Dispersive Solid-Phase Extraction” for the Determination of Pesticide Residues in Produce. *J AOAC Int* **2003**, 86 (2), 412–431.
- (24) López-Fernández, O.; Rial-Otero, R.; Simal-Gandara, J. High-Throughput HPLC–MS/MS Determination of the Persistence of Neonicotinoid Insecticide Residues of Regulatory Interest in Dietary Bee Pollen. *Analytical and bioanalytical chemistry* **2015**, 407. <https://doi.org/10.1007/s00216-015-8870-4>.
- (25) Drummond, F. A.; Ballman, E. S.; Eitzer, B. D.; Du Clos, B.; Dill, J. Exposure of Honey Bee (*Apis Mellifera* L.) Colonies to Pesticides in Pollen, A Statewide Assessment in Maine. *Environ. Entomol.* **2018**, 47 (2), 378–387. <https://doi.org/10.1093/ee/nvy023>.
- (26) Jiang, J.; Ma, D.; Zou, N.; Yu, X.; Zhang, Z.; Liu, F.; Mu, W. Concentrations of Imidacloprid and Thiamethoxam in Pollen, Nectar and Leaves from Seed-Dressed Cotton Crops and Their Potential Risk to Honeybees (*Apis Mellifera* L.). *Chemosphere* **2018**, 201, 159–167. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2018.02.168>.

- (27) Daniele, G.; Giroud, B.; Jabot, C.; Vulliet, E. Exposure Assessment of Honeybees through Study of Hive Matrices: Analysis of Selected Pesticide Residues in Honeybees, Beebread, and Beeswax from French Beehives by LC-MS/MS. *Environmental Science and Pollution Research* **2018**, 25 (7), 6145–6153. <https://doi.org/10.1007/s11356-017-9227-7>.
- (28) Kiljanek, T.; Niewiadowska, A.; Semeniuk, S.; Gawęł, M.; Borzęcka, M.; Posyniak, A. Multi-Residue Method for the Determination of Pesticides and Pesticide Metabolites in Honeybees by Liquid and Gas Chromatography Coupled with Tandem Mass Spectrometry--Honeybee Poisoning Incidents. *J Chromatogr A* **2016**, 1435, 100–114. <https://doi.org/10.1016/j.chroma.2016.01.045>.
- (29) Jabot, C.; Daniele, G.; Giroud, B.; Tchamitchian, S.; Belzunces, L. P.; Casabianca, H.; Vulliet, E. Detection and Quantification of Boscalid and Its Metabolites in Honeybees. *Chemosphere* **2016**, 156, 245–251. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2016.04.135>.
- (30) Fulton, C. A.; Huff Hartz, K. E.; Fell, R. D.; Brewster, C. C.; Reeve, J. D.; Lydy, M. J. An Assessment of Pesticide Exposures and Land Use of Honey Bees in Virginia. *Chemosphere* **2019**, 222, 489–493. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2019.01.156>.
- (31) EU Pesticides database - European Commission <https://ec.europa.eu/food/plant/pesticides/eu-pesticides-database/public/?event=homepage&language=EN> (accessed Aug 17, 2020).
- (32) FAO SPECIFICATIONS AND EVALUATIONS FOR AGRICULTURAL PESTICIDES CLODINAFOF-PROPARGYL (2006).
- (33) Conclusion Regarding the Peer Review of the Pesticide Risk Assessment of the Active Substance Metamitron. *EFSA Journal* **2008**, 6 (10), 185r. <https://doi.org/10.2903/j.efsa.2008.185r>.
- (34) Pérez-Santiago, G.; Otero-Colina, G.; Mota-Sanchez, D.; Ramírez Guzmán, M. E.; Vandame, R. Comparing Effects of Three Acaricides on Varroa Jacobsoni (Acari: Varroidae) and Apis Mellifera (Hymenoptera: Apidae) Using Two Application Techniques. *Florida Entomologist* **2000**, 83. <https://doi.org/10.2307/3496722>.
- (35) Regulation (EU) No 528/2012 Concerning the Making Available on the Market and Use of Biocidal Products Evaluation of Active Substances Assessment Report : Piperonyl Butoxide (January 2017).
- (36) White, K.; Holmes, J. Thomas Steeger, Ph.D., Senior Science Advisor Cheryl Sutton, Ph.D., Environmental Scientist. 35.
- (37) FAO SPECIFICATIONS AND EVALUATIONS FOR PLANT PROTECTION PRODUCTS BETA-CYFLUTHRIN (1RS, 3RS; 1RS, 3SR)-3-(2,2-Dichloro-Vinyl)-2,2-Dimethyl-Cyclopropane-Carboxylic Acid (RS)-Cyano-(4-Fluoro-3-Phenoxy-Phenyl)-Methyl Ester 1999.

- (38) Regulation (EU) N°528/2012 Concerning the Making Available on the Market and Use of Biocidal Products Evaluation of Active Substances Assessment Report Etofenprox Product-Type 18 (Insecticide) September 2013.
- (39) Effets toxiques des matières actives - SAgE pesticides : thiabendazole
<https://www.sagepesticides.qc.ca/Recherche/RechercheMatiere/DisplayMatiere?MatiereActiveID=174&searchText=thiabendazole&isProduct=False> (accessed Aug 15, 2020).
- (40) Effets toxiques des matières actives - SAgE pesticides : tébuconazole
<https://www.sagepesticides.qc.ca/Recherche/Environnement/DisplayEnvironnement?MatiereActiveID=171> (accessed Aug 15, 2020).
- (41) Review Report for the Active Substance Boscalid Finalised in the Standing Committee on the Food Chain and Animal Health at Its Meeting on 22 January 2008 in View of the Inclusion of Boscalid in Annex I of Directive 91/414/EEC. EUROPEAN COMMISSION HEALTH & CONSUMER PROTECTION DIRECTORATE-GENERAL Directorate E – Safety of the food chain Unit E.3 - Chemicals, contaminants, pesticides January 21, 2008.
- (42) Avis de l'agence Nationale de Sécurité Sanitaire de l'alimentation, de l'environnement et Du Travail Relatif à Une Demande d'autorisation de Mise Sur Le Marché Pour La Préparation PAKET 250 EC à Base de Trinexapac-Éthyl, de La Société AGRIPHAR SA (30/12/14).
- (43) EXTOTNET PIP - ORYZALIN <http://extotnet.orst.edu/pips/oryzalin.htm> (accessed Aug 17, 2020).
- (44) AVIS de l'Agence Nationale de Sécurité Sanitaire de l'alimentation, de l'environnement et Du Travail Relatif à Une Demande d'autorisation de Mise Sur Le Marché Pour la Préparation CASSIOPEE, à Base d'iprovalicarbe, de Fosétyl-Al Etde Folpel, de La Société BAYER CROPS SCIENCE FRANCE.
- (45) AVIS de l'Agence Nationale de Sécurité Sanitaire de l'alimentation, de l'environnement et Du Travail Relatif à Une Demande de Mise Sur Le Marché Pour La Préparation BASTILLE, à Base de Métribuzine et de Flufénacet, de La Société BAYER SAS Après Inscription de La Substance Active Métribuzine à l'annexe I de La Directive 91/414/CEE.
- (46) bifenthrine | herbicide fongicide insecticide | Shanghai Molotus Chemical Co., Ltd
<http://www.molotuschem.com/Fr/Product-i-12-32.html> (accessed Aug 15, 2020).
- (47) Propargite - Registration Dossier - ECHA <https://echa.europa.eu/fr/registration-dossier/-/registered-dossier/12670/6/4/3> (accessed Aug 18, 2020).
- (48) Effets toxiques des matières actives - SAgE pesticides : propiconazole
<https://www.sagepesticides.qc.ca/Recherche/RechercheMatiere/DisplayMatiere?MatiereActiveID=160> (accessed Aug 15, 2020).

- (49) AVIS* de l'Agence Française de Sécurité Sanitaire Des Aliments Relatif à Une Demande d'autorisation de Mise Sur Le Marché Provisoire Pour La Préparation CORAGEN, à Base de Chlorantraniliprole, de La Société DuPont Solutions France (2010, Source Afssa).
- (50) FAO SPECIFICATIONS AND EVALUATIONS FOR AGRICULTURAL PESTICIDES: Prochloraz_2016.
- (51) Avis de l'agence Nationale de Sécurité Sanitaire de l'alimentation, de l'environnement et Du Travail Relatif à Une Demande d'autorisation de Mise Sur Le Marché de La Préparation REGALIS PLUS à Base de Prohexadione-Calcium, de La Société BASF FRANCE SAS.
- (52) Effets toxiques des matières actives - SAgE pesticides : thiophanate-méthyl
<https://www.sagepesticides.qc.ca/Recherche/RechercheMatiere/DisplayMatiere?MatiereActi veld=175> (accessed Aug 16, 2020).
- (53) SAFETY DATA SHEET Ametrex 80 WG.
- (54) PROGRAMME CONJOINT FAO/PNUE POUR L'APPLICATION DE LA PROCEDURE D'INFORMATION ET DE CONSENTEMENT PREALABLES: Documents d'orientation Des Décisions Concernant Le Chlorobenzilate.
- (55) UNEP: Projet de Descriptif Des Risques Concernant Le Dicofol. May 19, 2016.
- (56) Böhme, F.; Bischoff, G.; Zebitz, C. P. W.; Rosenkranz, P.; Wallner, K. Pesticide Residue Survey of Pollen Loads Collected by Honeybees (*Apis Mellifera*) in Daily Intervals at Three Agricultural Sites in South Germany. *PLoS ONE* **2018**, *13* (7), e0199995.
<https://doi.org/10.1371/journal.pone.0199995>.
- (57) Avis 18-2018 du Comité scientifique de l'AFSCA. 80.
- (58) García-Valcárcel, A. I.; Molero, E.; Tadeo, J. L.; Hernando, M. D. Determination of Selected Environmental Contaminants in Foraging Honeybees. *Talanta* **2016**, *148*, 1–6.
<https://doi.org/10.1016/j.talanta.2015.10.064>.
- (59) Fulton, C. A.; Huff Hartz, K. E.; Fell, R. D.; Brewster, C. C.; Reeve, J. D.; Lydy, M. J. An Assessment of Pesticide Exposures and Land Use of Honey Bees in Virginia. *Chemosphere* **2019**, *222*, 489–493. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2019.01.156>.
- (60) Bommuraj, V.; Chen, Y.; Klein, H.; Sperling, R.; Barel, S.; Shimshoni, J. A. Pesticide and Trace Element Residues in Honey and Beeswax Combs from Israel in Association with Human Risk Assessment and Honey Adulteration. *Food Chemistry* **2019**, *299*, 125123.
<https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2019.125123>.
- (61) Chauzat, M.-P.; Martel, A.-C.; Cougoule, N.; Porta, P.; Lachaize, J.; Zeggane, S.; Aubert, M.; Carpentier, P.; Faucon, J.-P. An Assessment of Honeybee Colony Matrices, *Apis Mellifera* (Hymenoptera: Apidae) to Monitor Pesticide Presence in Continental France. *Environ. Toxicol. Chem.* **2011**, *30* (1), 103–111. <https://doi.org/10.1002/etc.361>.
- (62) Parole d'apiculteur Synthèse: Le Nourrissement de l'abeille (Veto-Pharma.Fr).

- (63) Berenbaum, M. R.; Johnson, R. M. Xenobiotic Detoxification Pathways in Honey Bees. *Curr Opin Insect Sci* **2015**, *10*, 51–58. <https://doi.org/10.1016/j.cois.2015.03.005>.
- (64) A worldwide survey of neonicotinoids in honey | Science
<https://science.sciencemag.org/content/358/6359/109.full> (accessed Aug 19, 2020).

ANNEXE 1 : Lieu d'accueil

UF de Toxicologie Environnementale et Santé au Travail

LOCALISATION

Bâtiment CBRs, CHU de LIMOGES
Service de pharmacologie, toxicologie et
pharmacovigilance



EQUIPE

1 Professeur des Universités – Praticien Hospitalier (Pr Franck SAINT-MARCOUX)
1 Praticien Hospitalier (Dr Souleiman EL BALKHI)
1 Ingénieur chimiste (Arnaud GARDERE)
6 techniciens de laboratoire

PRINCIPAUX EQUIPEMENTS

2 systèmes LC-MS/MS 8060 (Shimadzu)
1 système LC-MS/MS API 5500 (AB Sciex)
2 système GC-MS/MS 7000C (Agilent Technologies)
1 système GC-MS QP2010 (Shimadzu)
1 système GC-MS (Hewlett Packard)



PRINCIPALES ANALYSES DANS LES MILIEUX BIOLOGIQUES

Recherche large ; SCREENING par LC-MS/MS Environ 600 molécules (pesticides et/ou métabolites)
Glyphosate et AMPA
Carbamates
Dialkylphosphates
Dithiocarbamates (Disulfure de carbone ; CS₂)
Florasulame et 5-OH florasulame
Organochlorés et/ou métabolites (dont chlordécone)
Organophosphorés
Pyréthrinoïdes



ANNEXE 2 : Liste des molécules de la « méthode multi-résidus »

2,4,6-TCP	Fluvalinate	1-NAD	Dimethoate	Formetanate HCl	Phosalone	Thiacloprid
Acetochlor	Fluxapyroxad	2,4 DMA	Dime thomorph	Hexaconazole	Phosmet	Thiamethoxam
Aclonifen	Folpet	Abamectin	Dinocap	Hexythiazox	Phosmet oxon	Thiencazabone-methyl
Acrinathrin	Hexachlorobenzène	Acephate	Dinotefuran	Hydranmethylnon	Phoxim	Thifensulfuron-methyl
Aldrin	Heptachlor endo-epoxide (isomer A)	Acequinocyl	Dithianon	Imazail	Pinoxaden	Thiodicarb
Amisulbrom	Heptachlor exo-epoxide (isomer B)	Acetamiprid	Diuron	Imazamox	Piperonyl butoxide	Thiophanate methyl
Benfluralin	Heptachlor	Acibenzolar acid	DMF	Imidacloprid	Pirimicarb	Triadimefon
Bifenox	Iprodione	Acibenzolar-S-methyl	DMPT	Indoxiflame	Prochloraz	Triadimenol
Bifenthrin	Iprodione	Amectotradin	DMST	Indoxacarb	Profenofos	Tribenuron-methyl
Bromopropylate	Iprovalicarb	Ametryn	Dodine	Iodosulfuron-methyl	Prohexadione Ca	Trichlorfon
Bromoxynil	Isofenphos	Amidosulfuron	Emamectin B1a	Isoproturon	Propamocarb	Tridemorph
Bromuconazole	Isopyrasam	Azadirachtin	Emamectin B1b	Isoxaben	Propaquizafop	Trifloxystrobin
Cadusafos	Isoxadifen-ethyl	Azinphos-methyl	Epoxiconazole	Kresoxim methyl	Propargite	Triflumizole
Captan	Lambda cyhalothrin	Azoxystrobin	Etoazole	Lufenuron	Prosulfuron	Triflumuron
Carboxin	Undane	Bentazone	Famoxadone	Malaoxon	Prothioconazole	Triforine
Chlordecone	Metrafenone	Bentazone-8-OH	Fenamiphos	Malathion	Prothioconazole desthio	Trinexapac
Chlorfenapyr	Metribuzin	Benthiavalicarb-isopropyl	Fenamiphos sulfone	Mandipropamid	Pymetrozine	Triticonazole
Chlorobenzilate	Naled	Benzyladenine	Fenamiphos sulfoxide	Mecoprop	Pyradostrobin	Tritosulfuron
Chlorothalonil	Napropamide	Bifenazate	Fenarimol	Mepanipyrin	Pyridaben	Valifenalate
Chlorpyrifos ethyl	Oxadiazon	Bitertanol	Fenazaquin	Mephosfolan	Pyridafol	Vamidothion
Chlorpyrifos methyl	Oxyfluorfen	Bixafen	Fenbuconazole	Mesosulfuron methyl	Pyridate	
Clomazone	Paclobutrazol	Boscalid	Fenbutatin oxide	Mesotrione	Pyriphenox	
Cyflumetofen	Paraon-methyl	Bromadiol	Fenhexamid	Metalaxyl	Pyrimethanil	
Cyfluthrin	Parathion methyl	Bupirimate	Fenoxaprop-P	Metadexide	Pyriproxyfen	
Cypermethrin	Pendimethalin	Buprofezin	Fenoxycarb	Metamitron	Quinalphos	
Deltamethrin	Penthiopyrad	Carbaryl	Fenpropidin	Metconazole	Quinmerac	
Dichlofluanid	Phenyl-2-phenol	Carbendazim	Fenpropimorph	Methamidophos	Quinoxifen	
Dicloran	Phorate	Carbetamide	Fenpyrazamine	Methidathion	Rimsulfuron	
Dicofol	Phthalimide	Carbofuran	Fenpyroximate	Methiocarb	Rotenone	
Dieldrin	Picolinafen	Carbofuran-3-hydroxy	Fenthion	Methiocarb sulfone	Spinetoram J	
Diflufenican	Picoxystrobin	Chlorantraniliprole	Fenthion sulfone	Methiocarb sulfoxide	Spinetoram L	
Dimethadchlor	Procymidone	Chlorfluaazuron	Fenthion sulfoxide	Methomyl	Spinosad A	
Dimoxystrobin	Propiconazole	Clodinafop	Fipronil	Methoxyfenozide	Spinosad D	
Diphenylamine	Propylazamide	Clofentezine	Fipronil sulfone	Metobromuron	Spiromesifen	
Endosulfan alpha	Proquinazid	Clopyralid	Flazasulfuron	Metsulfuron methyl	Spirotetramat	
Endosulfan beta	Prosulfocarb	Clothianidin	Flonicamid	Mydobutanil	Spirotetramat ds keto hydroxy	
Endosulfan sulfate	Pyridalyl	Cyantraniliprole	Florasulam	Nicosulfuron	Spirotetramat enol	
Endrin	Quiazofofop-ethyl	Cyazofamid	Fluazinam	Norflurazon	Spirotetramat enol glucoside	
Ethion	Silthiofam	Cycloxydim	Flubendiamide	Novaluron	Spirotetramat mono hydroxy	
Ethofenprox	Spirodiclofen	Cyflufenamid	Fludioxonil	Nuaimol	Spiroxamine	
Ethofumesate	Sulfoxaflor	Cymoxanil	Flufenoxuron	Omethoate	Sulcotrione	
Ethofumesate-2-keto	Terbufos	Cyproconazole	Fuoppyram	Oryzalin	Sulfosulfuron	
Ethoprophos	Tetradifon	Cyprodinil	Fluoxastrobin	Oxamyl	Tebuconazole	
Fenitrothion	THPI	DEET	Flupyrulfuron-methyl	Oxydemeton methyl	Tebufenozide	
Fenpropathrin	Tolyfluaniid	Desmedipham	Fluquinconazole	Oxydemeton methyl sulfone	Tebufenpyrad	
Fenvalerate	Triallate	Diazinon	Flurtamone	Penconazole	Teflubenzuron	
Flufenacet	Vindozolin	Dicamba	Flusilazole	Penoxsulam	Tetraconazole	
Flumioxazin	Zoxamide	Dichlorvos	Flutriafol	Phenmedipham	TFNA	
Flupicolid	Dithiocarbamates	Difenoconazole	Foramsulfuron	Phorate sulfone	TFNG	
Fluroxypyr-1-methylheptyl	1-ANA	Diflubenzuron	Forchlorfenuron	Phorate sulfoxide	Thiabendazole	

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.

Résumé :

Les dernières décennies ont été marquées par un phénomène global de déclin des populations d'abeilles. Il apparaît que les pratiques agricoles, et l'utilisation de pesticides peuvent être une source de toxicité pour les colonies. Dans cette étude, nous avons recherché des pesticides dans plusieurs matrices apicoles, le miel, le pollen, les produits de nourrissage, le pain d'abeille ainsi que les cires. Nous avons procédé à la recherche de plus de 320 molécules par des méthodes de screening par LC-MS/MS et GC-MS/MS. Les échantillons, fournis par le « Rucher Ecole de Rocamadour », étaient issus d'une région couvrant le département du Lot et le sud de la Corrèze. Cette région a été délimitée en différentes zones en fonction de l'activité agricole, et donc de l'exposition potentielle aux pesticides. Parmi les 139 échantillons analysés nous avons décelé au moins un pesticide dans près de 67% des échantillons de miel, dans 50% des échantillons de pollen, dans près de la moitié des échantillons d'abeilles, ainsi que dans environ 80% des échantillons de pain d'abeille et de cires. Nos résultats n'ont pas mis en évidence de différences significatives entre les différentes zones. Si les connaissances actuelles ne permettent pas de conclure sur les risques associés à cette présence, il est possible qu'elle participe à la fragilité des colonies que les apiculteurs observent ces dernières années. Toutefois, les concentrations que nous avons mesurées demeuraient très faibles, inférieures aux LMR, écartant tout risque majeur chez le consommateur.

Abstract :

A decrease in the population of bees has been observed in the last decades. Many factors are suspected, including agricultural practices, mainly the use of pesticides. In the present study, we analysed different bee products collected in the areas of Lot and south Corrèze (« Rucher Ecole de Rocamadour »): honey, pollen, bee-food, bee-bread, honey-bees and beeswax. Each sample was identified according to its location and to the human activities around the hive. Different LC-MS/MS and GC-MS/MS methods were applied to determine more than 320 different pesticides. Out of the 139 samples, at least one pesticide residue was detected in about 2 thirds of honey samples, a half of pollens, a half of honey-bees and near to 80% of the bee-bread and beeswax samples. The molecules detected were herbicides, insecticides and antifungals. No concentration above the Maximum Levels of Residue (MLR) were measured and no difference was observed when considering the human activities around a hive. The risk associated with the presence of pesticides in bee products is hardly interpretable but it is likely to be partially responsible for the decline in the population of bees that is observed particularly in the area considered herein.