

# Bulletin épidémiologique Santé animale - alimentation

Novembre 2017  
Numéro spécial abeilles

## Ecotox : bilan de la première étude officielle de contamination des ruchers en France par des xénobiotiques, dans le cadre du dispositif Résabeilles

Faycal Meziani (1), Mathilde Saussac (2), Pascal Hendrikx (2), Joel Francart (3), Magali Chabert (4), Anne-Claire Martel (4), Stéphanie Franco (4), Monique L'Hostis (5), Christophe Roy (6), Cyril Vidau (7), Marie-Pierre Chauzat (2)

Auteur correspondant : faycal.meziani@agriculture.gouv.fr

- (1) Direction générale de l'Alimentation, Service des actions sanitaires en production primaire, Paris, France
- (2) Anses, Laboratoire de Lyon, Unité de coordination et d'appui à la surveillance, Lyon, France
- (3) Direction générale de l'Alimentation, Sous-direction de la qualité, de la santé et de la protection des végétaux, Paris, France
- (4) Anses, Laboratoire de Sophia-Antipolis, Unité de pathologie de l'abeille, Sophia Antipolis, France
- (5) École nationale vétérinaire, agroalimentaire et de l'alimentation de Nantes-Atlantique (Oniris), Nantes, France
- (6) Société nationale des groupements techniques vétérinaires, Paris, France
- (7) Institut technique et scientifique de l'apiculture et de la pollinisation, Paris, France

### Résumé

Le dispositif Résabeilles est la déclinaison dans six départements en France du programme européen de surveillance active de la mortalité et des maladies des abeilles, Epilobee. Afin de compléter le programme européen, un volet écotoxicologique a été développé à l'automne 2013 en France, conduisant au prélèvement d'échantillons de pain d'abeille et de miel de corps. Au total, 92 échantillons de pain d'abeille et 94 échantillons de miel ont été analysés pour la recherche de résidus de 65 molécules xénobiotiques considérées comme prioritaires. Les objectifs fixés pour ce dispositif complémentaire étaient de: i) vérifier la faisabilité d'une telle surveillance, ii) décrire certains pesticides auxquels étaient exposées les abeilles au sein des ruches prélevées, et iii) tester la possibilité d'identifier un lien statistique entre la détection de pesticides et la survie des colonies d'abeilles en hiver. Les résultats mettent en évidence une large exposition des ruchers de l'étude aux molécules chimiques analysées. Eu égard aux limites de détection et de quantification retenues pour les analyses, l'absence totale des substances recherchées est constatée dans seulement 13,8 % des ruchers analysés pour le miel et dans seulement 5,4 % des ruchers analysés pour le pain d'abeilles. Dans les autres ruchers, les résultats montrent la présence de une à six substances chimiques au sein des colonies étudiées. L'étude environnementale des ruchers dans un rayon de trois kilomètres a été réalisée à partir des données Corine Land Cover, 2012. Une étude cas-témoin a été réalisée sans être conclusive du fait d'une puissance statistique insuffisante. Il s'agissait d'une première expérience de recherche systématique officielle des toxiques sur des matrices apicoles à cette échelle. Celle-ci a notamment montré des difficultés pour recueillir un nombre suffisant de prélèvements exploitables. Des pistes d'amélioration pour la réalisation de futures études ont pu être identifiées.

### Mots-clés

Abeilles, surveillance, mortalité, France, programme Ecotox, éco-toxicologie, Résabeilles, Epilobee, pesticides

### Abstract

**Ecotox: results of the first official study on xenobiotics beehives contamination in France, in the framework of the Résabeilles scheme**

*Résabeilles was the declension in six departments in France of the European active surveillance on honeybee colony mortality and diseases Epilobee. In order to supplement the European program Résabeilles, an ecotoxicological component has been developed in France in the fall of 2013 and has led to carry out samples of honey and bee bread. In all, 92 bee bread samples and 94 honey samples were analyzed to search for the residues of 65 xenobiotics substances which were considered as priority. The objectives of this complementary program were (i) to test the feasibility of such surveillance (ii) to describe and identify the pesticides to which the bees are exposed to in the hives (iii) to test the possibility to identify a statistical link between the detection of pesticides and the survival of bee colonies in winter. The results show a large exposure of studied apiaries to the sought chemical molecules. Indeed, the total absence of the sought substances concerns only 13.8 % of the apiaries in honey samples and 5.4 % of the apiaries in bee bread samples. In the other apiaries, the results show the presence of up to six chemicals. The environmental study of apiaries within a radius of three kilometers was attempted with Corine Land Cover 2012 data source. A case-control study was carried out, but it has not been possible to establish a statistical link between the presence of pesticides and the observed mortality. This was the first experience of an official systematic search for chemical residues in bee matrix. Ways of improvement were identified, they could be used for future studies.*

### Keywords

*Honey bees, Surveillance, Pesticides, Mortality, France, Ecotox program, Ecotoxicology, Résabeilles, Epilobee*

La disparition importante des colonies d'abeilles rapportée depuis de nombreuses années par les apiculteurs et les scientifiques est une préoccupation grandissante pour l'ensemble des acteurs à travers le monde.

Un programme de surveillance de la mortalité des colonies d'abeilles, Epilobee, cofinancé par la Commission européenne, a été conduit dans dix-sept États membres de 2012 à 2014. Son objectif était de faire un état des lieux des mortalités des colonies d'abeilles et de la prévalence clinique des principales maladies des abeilles sur la base d'un protocole harmonisé. Ce programme était coordonné par le laboratoire de référence de l'Union européenne (LRUE) pour la santé des abeilles, le laboratoire de Sophia Antipolis de l'Anses. En France, ce programme était décliné dans six départements sous le nom de Résabeilles.

Le programme européen ne prévoyant pas la recherche de contaminants chimiques dans les colonies, la France a décidé en 2014 de financer la conduite d'un programme complémentaire baptisé Ecotox. Ce programme avait pour objectif d'étudier la faisabilité d'une estimation de la contamination des colonies à l'échelle d'une étude d'envergure nationale par des xénobiotiques, notamment ceux susceptibles de présenter une toxicité pour les abeilles, et l'exploration de liens éventuels entre exposition et mortalité.

Le programme Ecotox a été élaboré par le groupe abeilles de la Plateforme d'épidémiologie en santé animale (Plateforme ESA). Sur le plan opérationnel, les actions ont été coordonnées par la DGAL.

## Matériels et méthodes

### Définition des zones étudiées

Les six départements impliqués dans Résabeilles ont été intégrés dans le volet Ecotox, il s'agissait des Bouches-du-Rhône, du Cantal, de la Drôme, du Finistère, du Haut-Rhin et de l'Indre-et-Loire. Ils avaient été choisis dans le cadre de Résabeilles pour représenter différentes conditions de production apicole et d'environnement paysager en France, et en raison de la motivation des acteurs locaux, notamment apicole, prêts à s'impliquer dans le programme.

### Choix des ruchers

Tous les ruchers de Résabeilles ont été intégrés au programme Ecotox, à savoir 66 ruchers sélectionnés aléatoirement dans chaque département, donc représentatifs de la population apicole de ces départements. Dans le cadre de Résabeilles, chaque rucher faisait l'objet chaque année de trois visites : une à l'automne avant l'entrée en hivernage, une au printemps en sortie d'hivernage, et une en été au cours de la saison apicole. Dans chaque rucher, un maximum de quatorze colonies était sélectionné au hasard lors de la première visite puis inspecté à chaque visite pour vérifier leur état (vivantes ou mortes) et la présence éventuelle de signes cliniques pouvant correspondre à une maladie.

### Protocole des visites et prélèvements des matrices apicoles

Tous les ruchers surveillés dans le cadre de Résabeilles étaient éligibles à la réalisation des prélèvements de matrices apicoles pour la recherche de xénobiotiques. Afin d'atteindre une bonne représentativité de la contamination du rucher, il était prévu de prélever du miel de corps et du pain d'abeilles dans cinq colonies choisies de manière aléatoire parmi les colonies visitées. Si le rucher comportait moins de cinq colonies, toutes les colonies étaient prélevées. Les visites ont été conduites par des intervenants sanitaires apicoles spécialement formés pour répondre au besoin du programme et intervenant en binôme. Des procédures de prélèvement de matrices apicoles ont été élaborées par le laboratoire national de référence (LNR) (Anses, Sophia Antipolis) et distribuées aux agents.

### Le choix des substances à rechercher et l'analyse des matrices apicoles

Une liste de substances chimiques d'intérêt à rechercher a été établie avec le concours des référents-experts appartenant au réseau national d'expertise vétérinaire et phytosanitaire de la DGAL dans les domaines apiculture, grandes cultures, arboriculture, vignes, usages mineurs et résidus de pesticides, autres contaminants. Un classement en plusieurs catégories a été réalisé dans un premier temps en fonction de l'usage et du statut des substances chimiques (notamment grandes cultures, arboriculture, vignes, substance ayant fait l'objet d'interdiction récente, substances dites « mention abeilles », substances acaricides à usage apicole). Une liste finale de substances d'intérêt a été établie ([Tableaux 1a et 1b](#)).

Les analyses toxicologiques ont été réalisées dans deux laboratoires :

- le Girpa d'Angers pour une analyse multi-résidus intégrant 64 substances actives différentes et pour une analyse spécifique de recherche de dithiocarbamates,
- le LNR pour la recherche d'insecticides de la famille des néonicotinoïdes.

Les critères de choix des laboratoires étaient leur capacité à rechercher les molécules retenues dans les matrices miel et pain d'abeilles, avec des limites de détection (LD) et des limites de quantification (LQ) répondant aux objectifs fixés. Pour certaines substances, il a été jugé pertinent d'en rechercher également les métabolites, compte tenu de leur vitesse de dégradation et de leur toxicité potentielle sur les colonies d'abeilles.

Pour chaque type de matrice analysée, les résultats ont été classés en trois catégories ([Tableaux 1a et 1b](#) qui présentent aussi la somme des deux dernières catégories) :

- substance de teneur inférieure à la limite de détection de la méthode d'analyse ( $< LD$ ),
- substance détectable mais de teneur inférieure à la limite de quantification de la méthode (D, NQ),
- substance de teneur supérieure à la limite de quantification ( $> LQ$ ),

On notera que les limites de détection utilisées n'étaient pas les mêmes pour toutes les substances recherchées. Une limite de détection inférieure a été utilisée pour les néonicotinoïdes par exemple, justifiée par leur effet à dose plus faible que les autres substances actives. Un rucher était qualifié de positif pour une substance, lorsque celle-ci était détectée soit sur le prélèvement de miel, soit sur le prélèvement de pain d'abeilles.

### Étude environnementale des ruchers

La superposition spatiale entre la localisation des ruchers (coordonnées GPS) et des données sur l'occupation des sols (Corine Land Cover 2012) a permis de caractériser l'environnement de tous les ruchers dans un rayon de trois kilomètres, de manière à étudier un potentiel lien entre l'occupation des sols et la contamination des ruchers. Les données d'occupation des sols sont regroupées en 44 niveaux (forêts, cultures, eau, etc.) et sont mises à disposition par le programme européen d'observation de la Terre Copernicus.

Cinq catégories ont été définies afin de décrire l'environnement des ruchers. La première catégorie correspondait aux territoires artificialisés (zones urbaines, industrielles ou commerciales, mines, décharges et chantiers). La deuxième permettait d'identifier les territoires agricoles. La troisième correspondait aux forêts et aux milieux semi-permanents (espaces ouverts avec peu de végétation) et la quatrième était relative aux zones humides (marais, tourbières, zones humides maritimes). Enfin, une dernière catégorie permettait d'identifier les surfaces en eau (eaux continentales ainsi que les eaux maritimes).

L'ensemble du programme était coordonné à l'échelon national par la DGAL avec l'appui méthodologique de la Plateforme ESA et du LRUE. Au niveau local, la coordination du dispositif a été assurée

**Tableau 1a. Résultats des analyses des prélèvements de pain d'abeilles**

Substances	Classification	Nombre (et proportion (en %)) de ruchers			
		< LD	D, NQ	> LQ	D, NQ ou > LQ
Acétamipride	Insecticide (néonicotinoïde)	84 (96,5)	2 (2,3)	1 (1,1)	3 (3,4)
Boscalid	Fongicide	76 (82,6)	12 (13,0)	4 (4,3)	16 (17,4)
Chlorantraniliprole	Insecticide	90 (97,8)	1 (1,1)	1 (1,1)	2 (2,2)
Coumaphos*	Acaricide	89 (96,7)	2 (2,2)	1 (1,1)	3 (3,3)
Cyprodinil	Fongicide	86 (93,5)	4 (4,3)	2 (2,2)	6 (6,5)
Dithiocarbamates	Fongicide	66 (72,5)	13 (14,3)	12 (13,2)	25 (27,5)
DMA	Acaricide	75 (81,5)	12 (13,0)	5 (5,4)	17 (18,5)
DMF	Acaricide	25 (27,2)	15 (16,3)	52 (56,5)	67 (72,8)
DMPF	Acaricide	29 (31,5)	11 (12,0)	52 (56,5)	63 (68,5)
Imidaclopride	Insecticide (néonicotinoïde)	84 (96,5)	0 (0)	3 (3,4)	3 (3,4)
Indoxacarbe	Insecticide	91 (98,9)	1 (1,1)	0 (0)	1 (1,1)
Propargite*	Acaricide	86 (93,5)	6 (6,5)	0 (0)	6 (6,5)
Spinosad	Insecticide	91 (98,9)	0 (0)	1 (1,1)	1 (1,1)
Spinosyne A	Insecticide	91 (98,9)	0 (0)	1 (1,1)	1 (1,1)
Spinosyne D	Insecticide	91 (98,9)	1 (1,1)	0 (0)	1 (1,1)
Tau-fluvalinate	Acaricide	69 (75,0)	13 (14,1)	10 (10,9)	23 (25,0)
Tebuconazole	Fongicide	89 (96,7)	2 (2,2)	1 (1,1)	3 (3,3)
Thiaclopride	Insecticide (néonicotinoïde)	73 (83,9)	3 (3,4)	11 (12,6)	14 (16,1)
Thiamethoxam	Insecticide (néonicotinoïde)	86 (98,8)	0 (0)	1 (1,1)	1 (1,1)

**Substances recherchées non détectées**

**Acaricides:** acequinocyl, amitraze, clofentezine, dicofol, fenazaquin, fenpyroximate, hexythiazox, spiroadiclofen, tebufenpyrad

**Anthelminthiques:** doramectine, eprinomectine, ivermectine, moxidectine

**Fongicides:** chlorothalonil, cyprodinil

**Insecticides:** abamectine, acrinathrine, bifenthrine, carbaryl, chlorpyrifos\_méthyl, clothianidine (néonicotinoïde), cyfluthrine (énantiomère), cyperméthrine, deltaméthrine, diflubenzuron, diméthoate, emamectine\_benzoate, etofenprox, etoxazole, fenitrothion, fenoxycarbe, fenvalerate (énantiomère), fipronil, fipronil\_desulfanyl, fipronil\_sulfide, fipronil\_sulfone, flonicamide, flufenoxuron, gamma\_cyhalothrine, lambda\_cyhalothrine, lufenuron, méthomyl, méthoxyfenoziide, ométhoate, phosmet, phosmet\_oxon, pirimicarbe, pirimicarbe\_desmethyl, pymétrozine, pyréthrinés, pyridaben, roténone, spirotetramat, spirotetramat\_ketohydroxy, spirotetramat\_monohydroxy, tebufenozide, tefluthrine, thiodicarbe

**Molluscicides:** métaldehyde, méthiocarbe, méthiocarbe\_sulfone, méthiocarbe\_sulfoxide

\* Substances interdites

**Tableau 1b. Résultats des analyses des prélèvements de miels**

Substances	Classification	Nombre (et proportion) de ruchers			
		< LD	D,NQ	> LQ	D, NQ ou > LQ
Acétamipride	Insecticide (néonicotinoïde)	91 (96,8)	2 (2,1)	1 (1,1)	3 (3,2)
Boscalid	Fongicide	92 (97,9)	2 (2,1)	0 (0)	2 (2,1)
DMA	Acaricide	89 (94,7)	5 (5,3)	0 (0)	5 (5,3)
DMF	Acaricide	24 (25,5)	27 (28,7)	43 (45,7)	70 (74,5)
DMPF	Acaricide	27 (28,7)	30 (31,9)	37 (39,4)	67 (71,3)
Propargite*	Acaricide	89 (94,7)	4 (4,3)	1 (1,1)	5 (5,3)
Tau-fluvalinate	Acaricide	84 (89,4)	8 (8,5)	2 (2,1)	10 (10,6)
Thiaclopride	Insecticide (néonicotinoïde)	84 (89,4)	3 (3,2)	7 (7,4)	10 (10,6)

**Substances non détectées**

**Acaricides:** acequinocyl, amitraze, clofentezine, coumaphos, dicofol, fenazaquin, fenpyroximate, hexythiazox, spiroadiclofen, tebufenpyrad

**Anthelminthiques:** doramectine, eprinomectine, ivermectine, moxidectine

**Fongicides:** chlorothalonil, cyprodinil, dithiocarbamates, tebuconazole

**Insecticides:** abamectine, acrinathrine, bifenthrine, carbaryl, chlorantraniliprole, chlorpyrifos\_méthyl, clothianidine (Néonicotinoïde), cyfluthrine (énantiomère), cyperméthrine, deltaméthrine, diflubenzuron, diméthoate, emamectine\_benzoate, etofenprox, etoxazole, fenitrothion, fenoxycarbe, fenvalerate (énantiomère), fipronil, fipronil\_desulfanyl, fipronil\_sulfide, fipronil\_sulfone, flonicamide, flufenoxuron, gamma\_cyhalothrine, imidaclopride (Néonicotinoïde), indoxacarbe, lambda\_cyhalothrine, lufenuron, methomyl, methoxyfenoziide, ométhoate, phosmet, phosmet\_oxon, pirimicarbe, pirimicarbe\_desmethyl, pymétrozine, pyréthrinés, pyridaben, roténone, spinosad, spinosyne\_A, spinosyne\_D, spirotetramat, spirotetramat\_ketohydroxy, spirotetramat\_monohydroxy, tebufenozide, tefluthrine, thiaméthoxam (Néonicotinoïde), thiodicarbe

**Molluscicides:** métaldehyde, méthiocarbe, méthiocarbe\_sulfone, méthiocarbe\_sulfoxide

\* Substances interdites

par les directions départementales en charge de la protection des populations (DDecPP).

**Étude cas-témoin**

Dans le but de pouvoir établir un lien entre la présence des xénobiotiques recherchés et la mortalité des colonies d'abeilles, la contamination chimique (nombre et nature des substances chimiques)

a été comparée entre des ruchers cas (mise en évidence d'un taux de mortalité supérieur à 30 % au cours de l'hiver 2013-2014) et des ruchers témoins (taux de mortalité inférieur à 10 % au cours du même hiver). Chaque cas a été apparié à plusieurs témoins sur la base de l'âge de l'apiculteur, du département, de l'environnement et de la taille du rucher. L'absence de différence significative des cas et des témoins sur ces critères a été vérifiée statistiquement par le calcul de l'odds-ratio et l'intervalle de confiance associé.

## Résultats

### Visites, prélèvements et analyses

Tous les prélèvements ont été réalisés au cours de la visite d'automne de 2013. Au total, 1 161 colonies de 324 ruchers ont fait l'objet d'un prélèvement de pain d'abeilles et 905 colonies de 320 ruchers d'un prélèvement de miel dans les six départements du programme. Les quantités de pain d'abeilles et de miel prélevés dans les colonies n'étaient pas toujours suffisantes pour réaliser l'ensemble des analyses. Les échantillons ont été rassemblés en pools homogènes et représentatifs des prélèvements effectués au sein d'un même rucher. L'objectif était de pouvoir disposer de 10 g de miel et de 6 g de pain d'abeilles par rucher, à partir du mélange des prélèvements d'au moins trois colonies. Ceci a conduit à disposer au total de 255 prélèvements de pain d'abeille et de 110 prélèvements de miel.

Malgré cette stratégie de regroupement de prélèvements, il n'a pas été possible d'obtenir une quantité suffisante de matériel pour plusieurs ruchers. C'est ainsi qu'au final, 92 échantillons de pain d'abeilles et 94 échantillons de miel présentaient une quantité suffisante avec 92 échantillons possédant une quantité suffisante pour les deux matrices en commun (*i.e.* les prélèvements de pain d'abeilles et de miel provenaient des mêmes colonies).

### Étude exposition

Les résultats des analyses des miels et pain d'abeilles sont présentés dans les **Tableaux 1a et 1b**.

Aucune molécule n'a été détectée pour 13,8 % des ruchers dans le prélèvement de miel et 5,4 % des ruchers dans le prélèvement de pain d'abeilles. Jusqu'à six substances différentes ont été retrouvées (**Tableau 2**) pour 3,3 % des ruchers pour le pain d'abeilles.

Seuls deux ruchers étaient totalement exempts de substance chimique, à la fois dans le miel et le pain d'abeilles. Six molécules chimiques différentes ont été détectées dans le miel et quinze dans le pain d'abeilles, réparties dans les trois classes de xénobiotiques: acaricides, fongicides et insecticides.

#### Les acaricides

Les acaricides ou leurs métabolites étaient présents dans 83 % des ruchers avec analyse de miel et 85,9 % des ruchers avec analyse de pain d'abeilles. Au total, 71,3 % des ruchers pour le miel et 59,8 % des ruchers pour le pain d'abeilles étaient positifs par la présence de métabolites de l'amitrazé seulement. Ceci réduit la proportion de ruchers positifs à une autre substance que l'amitrazé ou ses métabolites (11,7 % des ruchers prélevés en miel avec la présence de propargite et tau-fluvalinate, et 26,1 % des ruchers prélevés pour le pain d'abeilles avec la présence de propargite, tau-fluvalinate et coumaphos).

#### Les insecticides néonicotinoïdes

**Tableau 2.** Distribution des ruchers en fonction du nombre de substances retrouvées par rucher et par matrice

Nombre de substances	Nombre (et proportion (en %)) de ruchers positifs	
	Prélèvements de miel	Prélèvements de pain d'abeilles
0	13 (13,8 %)	5 (5,4 %)
1	67 (71,3 %)	37 (40,2 %)
2	8 (8,5 %)	23 (25 %)
3	4 (4,3 %)	18 (19,6 %)
4	2 (2,1 %)	6 (6,5 %)
5	0	0
6	0	3 (3,3 %)
<b>Total</b>	<b>94</b>	<b>92</b>

La présence d'au moins un néonicotinoïde a été retrouvée dans respectivement 11,7 % et dans 22,8 % des ruchers prélevés pour le miel et le pain d'abeilles. La clothianidine n'a pas été retrouvée. Les autres substances recherchées (imidaclopride, thiaclopride, acétamipride et thiamétoxam) ont toutes été détectées dans des proportions variées. Deux de ces substances se retrouvent aussi bien dans les matrices miel que pain d'abeilles, il s'agit du thiaclopride et de l'acétamipride. L'imidaclopride et le thiamétoxam ont été détectés uniquement dans des échantillons de pain d'abeilles. Cela représente au moins un résultat positif sur les prélèvements de miel dans quatre départements sur six, et dans cinq départements sur six pour les prélèvements de pain d'abeilles. Le thiaclopride présente la fréquence de détection la plus importante parmi les néonicotinoïdes et ce, aussi bien dans le pain d'abeilles (10,6 %) que dans le miel (15,2 %). Cinq ruchers étaient positifs pour les substances néonicotinoïdes à la fois dans les prélèvements de miel et de pain d'abeilles dont trois pour le thiaclopride.

#### Les fongicides

Les résultats mettent en évidence la présence d'au moins un fongicide dans respectivement 2,1 % et 41,3 % des échantillons de miel et de pain d'abeilles. Quatre substances différentes ont été détectées: boscalid, dithiocarbamates, cyprodinyl et tébuconazole. Le boscalid, fongicide de la famille des carboxamides, est le seul à avoir été détecté aussi bien dans du miel que dans le pain d'abeilles. Les dithiocarbamates présentaient une plus grande fréquence de détection, avec 27,2 % des ruchers prélevés pour le pain d'abeilles (présence non détectée dans les échantillons de miel). Dans 5,4 % des ruchers, il y avait présence simultanée du boscalid et des dithiocarbamates. Le cyprodinyl et le tébuconazole étaient présents dans respectivement 6,5 % et 3,3 % des ruchers prélevés pour le pain d'abeilles. Enfin, dans un rucher, les quatre substances fongicides citées précédemment ont été mises en évidence dans un prélèvement de pain d'abeilles.

## Environnement des ruchers

Il n'a pas été possible de mettre en évidence un lien statistique entre les données d'occupation des sols et la contamination des ruchers, que ce soit d'un point de vue qualitatif (nature des contaminants retrouvés) ou quantitatif (nombre de contaminants retrouvés).

## Étude cas-témoin

Les résultats ne mettent en évidence aucune différence significative entre les cas et les témoins. Le trop faible nombre de ruchers a rendu complexe une analyse comparative approfondie entre les cas et les témoins. Il n'a de ce fait pas été possible d'établir un lien statistique entre la présence des pesticides retrouvés dans les matrices apicoles et la surmortalité constatée.

## Discussion

Cette étude présente un certain nombre de limites qu'il est important de rappeler. Tout d'abord, son objectif étant essentiellement descriptif, la détection d'une substance dans le miel ou le pain d'abeilles ne signifie pas nécessairement présence d'un risque, mais présente l'intérêt de documenter la nature et le nombre de substances auxquelles les abeilles sont exposées. Même si une démarche analytique a été tentée (recherche d'un lien statistique entre une exposition et un effet sur la mortalité) celle-ci présente les limites: i) d'adaptation des données d'une étude descriptive pour une étude analytique, ii) d'absence de prise en compte d'autres facteurs que les contaminants chimiques (agents pathogènes par exemple) et iii) de l'unité épidémiologique utilisée (rucher vs colonies) choisie pour des raisons pratiques (cf. infra). Il faut donc avoir ces limites à l'esprit

pour l'interprétation des données que nous discutons ici.

Les résultats des analyses toxicologiques montrent qu'il y avait très peu de ruchers pour lesquels aucune molécule chimique n'a été détectée, qu'il s'agisse de substances d'origine apicole (résidus de traitement vétérinaire contre la varroose) ou environnementale (résidus de traitement phytopharmaceutique, biocides ou usages médicamenteux).

Un plus grand nombre de substances actives a été détecté dans le pain d'abeilles par rapport au miel. Ce constat est en accord avec certaines investigations menées dans le cadre de la surveillance évènementielle des mortalités tout en considérant que le miel et le pain d'abeilles ne sont pas des matrices prélevées en routine dans ce dispositif de surveillance (voir l'article Meziani et al., sur les bilans annuels de la surveillance évènementielle des mortalités massives aiguës 2014-2015-2016 dans ce même numéro). La présence fréquente de pesticides dans le pain d'abeilles peut s'expliquer par le caractère lipophile du pollen qui compose le pain d'abeilles, qui est donc plus sujet à renfermer des substances chimiques que le miel à caractère hydrophile. Le pollen, constituant majeur du pain d'abeilles, est également une matrice très contaminée chimiquement comme cela a été montré par plusieurs études dans différents pays. Ces résultats sont également en accord avec d'autres études précédemment menées en France (Chauzat et al., 2011), en Espagne (Bernal et al., 2010) et aux États-Unis, ainsi qu'avec les constats de l'existence d'une multi-exposition répétée des colonies aux agents chimiques (Anses, 2015).

La fréquence élevée de détection d'acaricides concernait en grande partie les métabolites de l'amitraz (DMA: 2,4-diméthylaniline, DMF: N-(2,4-diméthylphényl) formamide, DMPF: N-(2,4-diméthylphényl)-N'-méthylformamide). Cette présence est cohérente avec un large usage apicole de l'amitraz dans le cadre du traitement contre varroa comme identifié dans l'audit de la filière apicole 2012. Il n'est cependant pas possible de conduire le même raisonnement pour le tau-fluvalinate, également utilisé comme acaricide, car cette substance est également utilisée en traitement phytopharmaceutique et aucune analyse ne permet de discriminer l'origine apicole ou pour les cultures de cette substance. En outre, le transfert du tau-fluvalinate ou de certains acaricides lipophiles des cires contaminées vers le miel reste possible (Wallner, 1999) mais n'a pas fait l'objet d'analyses dans la présente étude.

Par ailleurs, la présence dans certains échantillons de concentrations en métabolites de l'amitraz dépassant les limites maximales des résidus de la substance mère, témoigne de l'application de doses initiales élevées de celle-ci. Ceci est probablement dû à un usage non maîtrisé de cette molécule, lié potentiellement à l'utilisation d'une spécialité non destinée aux abeilles ou d'application d'amitraz en cours de saison apicole.

La fréquence de détection de la propargite (acaricide jadis utilisé dans le traitement de la vigne, dont l'usage est interdit depuis 2011 en France et en Europe) est assez élevée tant au niveau des échantillons positifs (5,3 % des 94 échantillons de miel et 6,5 % des 92 échantillons de pain d'abeilles) qu'au niveau du nombre des départements impliqués dans l'étude (quatre départements sur six). Il s'agit de l'Indre et Loire, Drôme, Haut-Rhin et Cantal.

Le coumaphos, acaricide également interdit en France, retrouvé dans trois ruchers dans des échantillons de pain d'abeilles, est systématiquement détecté dans des échantillons positifs également au tau-fluvalinate. L'effet synergisant du coumaphos et du tau-fluvalinate pourrait engendrer un impact néfaste sur la santé des colonies (Johnson et al. 2013).

La présence des fongicides est élevée avec 41,3 % des échantillons de miel positifs. Ce résultat est concordant avec le rapport du ministère de l'Agriculture mentionnant une augmentation de la consommation de ces substances à la faveur de conditions climatiques caractérisées

en 2013 par un hiver doux et humide, une fin de printemps humide prolongée par un été également humide et plus frais que la normale. Ces conditions engendrent, une pression élevée des maladies des végétaux causées par des champignons (Ministère de l'Agriculture 2016).

Les dithiocarbamates et le boscalid sont les fongicides les plus retrouvés dans cette étude. Les dithiocarbamates sont considérés comme faiblement toxiques pour les abeilles. Cependant, on peut s'interroger sur les effets cumulés des doses mises en évidence dans le pain d'abeilles et qui sont, pour certains échantillons, peu éloignées des doses toxiques.

Parmi les insecticides présents, les substances néonicotinoïdes représentent la majeure partie des molécules détectées dans les deux matrices. Les deux seuls insecticides présents dans les échantillons de miel et quatre des sept insecticides détectés dans le pain de d'abeilles sont des néonicotinoïdes. Il faut tenir compte que ce résultat est également lié aux limites de détection appliquées plus faibles pour les néonicotinoïdes que pour les autres substances recherchées dans cette étude. Il faut également prendre en compte que les néonicotinoïdes ont une action à des doses inférieures aux autres substances connues pour avoir un effet toxique sur les abeilles, ce qui justifie la nécessité d'avoir utilisé des limites de détection plus basses et peut expliquer la fréquence plus importante de leur mise en évidence. Cette fréquence de détection fait écho à l'augmentation des volumes utilisés de ces substances au niveau national en 2013 (Ministère de l'Agriculture 2015), notamment pour le thiaclopride.

Par ailleurs, la présence concomitante de néonicotinoïdes et de substances acaricides ou fongicides pose la question des effets synergiques. Il semblerait en effet que la dose de fongicides reçue par les abeilles détermine la toxicité des néonicotinoïdes (Thompson et al., 2014).

Le règlement d'exécution (UE) N° 485/2013 de la Commission du 24 mai 2013 a limité l'utilisation professionnelle de la clothianidine, du thiaméthoxam et de l'imidaclopride et a interdit la vente de semences traitées avec ces substances ainsi que les utilisations non professionnelles. Enfin, ces substances seront interdites pour leur utilisation en agriculture à compter du 1<sup>er</sup> septembre 2018 (avec des dérogations jusqu'au 1<sup>er</sup> juillet 2020) conformément à la loi biodiversité de 2016<sup>(1)</sup>.

L'étude cas-témoin n'a pas permis de montrer une relation statistique entre la présence des résidus chimiques recherchés et la mortalité des colonies. Sans préjuger du résultat qu'aurait donné cette étude avec un nombre plus important de cas et de témoins, l'absence de relation peut être consécutive à un manque de puissance statistique lié à un nombre insuffisant de ruchers inclus dans l'étude et au nombre important de facteurs pris en compte (nombre de molécules). L'absence de lien peut également être consécutive à la nécessité pratique de pooler les prélèvements de plusieurs colonies prélevées dans le rucher. Or, si l'on tient compte de la variabilité de l'exposition des colonies au sein d'un même rucher (les abeilles de différentes colonies ne butinent pas forcément les mêmes végétaux), la mortalité par exposition chimique devrait se raisonner plutôt à l'échelle de la colonie. Le regroupement de colonies en pools homogènes a donc pu masquer des effets de la contamination chimique. De même, la variabilité des environnements des ruchers, même après simplification des données de Corine Land Cover, et la variété des contaminants chimiques retrouvés n'a pas permis, avec le nombre trop faible de ruchers pris en compte, d'avoir la puissance statistique nécessaire pour mettre en évidence un lien statistique entre environnement et contamination des ruchers. Ceci tient également sans doute au fait que les données d'occupation du sol sont un proxy<sup>(2)</sup> un peu

(1) Loi n° 2016-1087 du 8 août 2016 pour la reconquête de la biodiversité, de la nature et des paysages.

(2) En statistique, un proxy est une variable qui n'est pas significative en soi, mais qui sert en lieu et place d'une variable non observable ou non mesurable (Wikipédia).

grossier des usages de produits contaminants chimiques (produits phytopharmaceutiques ou biocides) qu'il conviendrait de pouvoir cartographier plus précisément pour permettre d'établir ce lien.

Le programme Ecotox a permis de démontrer la faisabilité de la collecte de miels et de pain d'abeilles à grande échelle pour faire des analyses de résidus de pesticides à l'échelle d'un programme de surveillance régulier. Néanmoins, des points d'amélioration ont été identifiés dans plusieurs domaines, notamment dans le domaine technique, tels que : la prise en compte de l'ensemble des substances dont la coprésence dans des matrices apicoles est susceptible de produire un effet synergique ou potentialisateur, la possibilité de garder un niveau d'analyse et d'interprétation à l'échelle de la colonie plutôt que du rucher pour mieux lier la recherche d'un lien entre exposition et impact sanitaire, l'amélioration de la sensibilité des méthodes de détection par les laboratoires, ou encore la prise en compte de l'effet du largage des substances actives contenues dans la matrice cire contaminée.

Par ailleurs, des difficultés ont été notamment rencontrées pour obtenir des quantités suffisantes de matrices pour réaliser les analyses. Ceci était dû à la période retenue (automne) qui n'est pas optimale pour avoir du pollen et du miel en quantité importante, mais également aux modalités de conditionnement et de stockage des échantillons avec des miels qu'il a été particulièrement difficile d'extraire des alvéoles après un long temps de stockage. De même, l'extraction au laboratoire du pain d'abeilles des alvéoles s'est révélé une opération très consommatrice de main d'œuvre. Il s'avérerait intéressant pour des études ultérieures de pouvoir s'appuyer sur un réseau de laboratoires de proximité en mesure de réaliser rapidement un conditionnement adéquat des échantillons. Ces problèmes de quantité de matrices à collecter ont conditionné directement la faisabilité de la recherche d'un grand nombre de xénobiotiques dans les prélèvements, qui s'est également heurtée au coût important de cette recherche. L'impossibilité d'analyser les échantillons dans un certain nombre de ruchers a légitimement entraîné une certaine frustration chez les apiculteurs concernés. Il conviendra ainsi de mieux communiquer à l'avance sur les règles d'analyse des échantillons (quantité suffisante de matrice sur un nombre suffisant de colonies) de manière à éviter cette situation. Par ailleurs, la proposition de mesures incitatives pour conserver la motivation des apiculteurs volontaires pourrait être utilement étudiée.

D'un point de vue organisationnel, malgré les difficultés et la complexité du protocole, on note un bon niveau de réalisation. Ceci a nécessité beaucoup d'efforts à tous les échelons du programme. De nombreux échanges ont été nécessaires entre la coordination du programme à l'échelon national et les acteurs en charge de la collecte des échantillons, de leur traitement et leur analyse au niveau des laboratoires impliqués. Néanmoins, le retour d'expérience conduit avec les acteurs a permis de montrer qu'il convenait encore d'augmenter la régularité des réunions d'information des acteurs et de communiquer plus rapidement les résultats individuels et collectifs des analyses réalisées.

## Conclusion

La surveillance de la santé des colonies d'abeilles au sens large, et plus particulièrement de la mortalité, obéit à une démarche

systémique suggérant l'intégration de l'ensemble des facteurs de risque (agents pathogènes biotiques, agents chimiques, climat, conduite zootechnique,...) et de leurs éventuelles interactions au sein des colonies d'abeilles. Le programme Ecotox, malgré les difficultés techniques rencontrées, a permis de démontrer la faisabilité d'une surveillance programmée complémentaire à visée toxicologique, permettant d'étudier l'exposition des colonies d'abeilles et de pouvoir disposer d'informations complémentaires pour une exploitation globale des données.

La reconduction d'un tel programme n'aura de sens que si ce dernier est systématique et qu'il fait partie d'un programme global prenant en compte l'ensemble de ces facteurs de risque. L'exploitation de ces données servirait non seulement pour tenter d'expliquer les événements de santé qui surviennent dans les colonies d'abeilles, mais pourrait représenter un des indicateurs de suivi de l'efficacité des mesures d'interdiction, de restriction ou de diminution de l'usage des produits phytopharmaceutiques. Les résultats de cette surveillance pourraient également documenter l'évaluation de la dangerosité des substances chimiques pour les abeilles.

La dimension européenne d'un tel programme s'il venait à se mettre en place avec un cofinancement de la Commission européenne et un pilotage du LRUE s'inscrirait dans la continuité du travail important déjà réalisé et valoriserait ainsi les compétences et les expériences acquises.

## Références bibliographiques

- Anses (2015) Co-exposition des abeilles aux facteurs de stress. Avis de l'Anses. Saisine n° 2012-SA-0176. Rapport d'expertise collective. Juillet 2015. 268 p.
- Bernal, J., E. Garrido-Bailón, M. J. Del Nozal, A. V. González-Porto, R. Martín-Hernández, J. C. Diego, J. J. Jiménez, J. L. Bernal, et M. Higes. 2010. "Overview of Pesticide Residues in Stored Pollen and Their Potential Effect on Bee Colony (*Apis mellifera*) Losses in Spain." *J Econ Entomol Journal of Economic Entomology*. doi: 10.1603/EC10235.
- Chauzat, M.P., A.C. Martel, N. Cougoule, P. Porta, J. Lachaize, S. Zeggane, M. Aubert, P. Carpentier, et J.P. Faucon. 2011. "An assessment of honeybee colony matrices, *Apis mellifera* (Hymenoptera:Apidae) to monitor pesticide presence in continental France." *Environ Tox Chem, Environmental Toxicology and Chemistry* 30:103-111.
- Johnson, R.M., L. Dahlgren, B.D. Siegfried, et M.D. Ellis. 2013. "Acaricide, Fungicide and Drug Interactions in Honey Bees (*Apis mellifera*)." *PLoS One*. 8 (1):e54092-. doi: <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0054092>.
- Ministère de l'Agriculture (2015) Note de suivi 2015 du ministère de l'agriculture l'Agriculture : Tendances du recours aux produits phytopharmaceutiques de 2009 à 2014. Note de suivi 2015 du ministère de l'Agriculture. [http://agriculture.gouv.fr/sites/minagri/files/20160301\\_notesuivi\\_ecophyto2.pdf](http://agriculture.gouv.fr/sites/minagri/files/20160301_notesuivi_ecophyto2.pdf) (accédé le 6/11/2017). 36 p.
- Ministère de l'Agriculture (2016) Communiqué de presse du MAAF du 8 mars 2016 : Utilisation des produits phytosanitaires (Résultats nationaux pour l'année 2014 et lancement du nouveau plan Ecophyto 2). Communiqué de presse du MAAF du 8 mars 2016.
- Thompson, H. M., S. L. Fryday, S. Harkin, et S. Milner. 2014. "Potential impacts of synergism in honeybees (*Apis mellifera*) of exposure to neonicotinoids and sprayed fungicides in crops." *Apidologie* 45 (5):545-553.
- Wallner, K. 1999. "Varroacides and their residues in bee products." *Apidologie* 30:235-248. doi: <https://doi.org/10.1051/apido:19990212>.