

AVIS 18-2018

Objet :

**Contamination et adultération de la cire
d'abeille : risque pour la santé des abeilles**

(SciCom 2016/27)

Avis scientifique approuvé par le Comité scientifique le 14 novembre 2018.

Mots-clés :

Abeille, cire, contamination, adultération

Key terms:

Honeybee, beeswax, contamination, adulteration

Table des matières

Résumé	4
Summary	6
1. Termes de référence	8
1.1. Questions	8
1.2. Dispositions légales	8
1.3. Méthode	8
2. Définitions & Abréviations	9
3. Contexte	10
3.1. Eléments explicatifs	10
3.1.1. Les différents types de cire naturelle et synthétique	10
3.1.2. Les différentes voies potentielles de contamination et d'adultération de la cire d'abeille	13
3.1.3. L'exposition des abeilles aux contaminants (via la cire) au cours de leur vie	15
3.2. Aspects légaux liés à la composition et à la qualité de la cire au sein de la chaîne alimentaire	18
3.3. Recyclage, transformation industrielle, importation et commercialisation de la cire d'abeille	21
3.4. La contamination de la cire d'abeille par les résidus de produits phytopharmaceutiques et leur toxicité vis-à-vis des abeilles domestiques	24
3.5. Les médicaments vétérinaires utilisés en apiculture	25
3.6. Les biocides potentiellement utilisés en apiculture	30
3.7. Interactions entre substances actives et conséquences sur la santé des abeilles domestiques	31
4. Réponse aux questions	35
4.1. Quelles sont les contaminations et adultérations connues de la cire d'abeille ?	35
4.2. Quelles substances sont susceptibles de présenter un risque pour la santé des abeilles/de la colonie suite à la contamination ou l'adultération de la cire (après usage unique ou suite à l'utilisation de cire recyclée) ?	35
4.3. Une limite d'action par rapport à la présence éventuelle de ces substances dans la cire peut-elle être proposée afin de préserver la santé des abeilles ?	39
4.3.1. Adultération	39
4.3.2. Contamination	40
5. Incertitudes	50
6. Conclusions	51
7. Recommandations	51
7.1. Destinées au secteur apicole	51
7.2. Destinées aux autorités	52
Références	54
Membres du Comité scientifique	60
Conflit d'intérêts	60
Remerciements	60
Composition du groupe de travail	61
Cadre juridique	61
Disclaimer	61
Annexe 1 : Informations détaillées relatives à la pharmacodynamie et à la toxicité des substances actives dont l'utilisation (légal ou illégal) comme médicament vétérinaire en apiculture est connue	62
Annexe 2 : Aperçu des substances chimiques détectées dans la cire d'abeille selon différentes références scientifiques, de leur toxicité aiguë par contact et par voie orale pour l'abeille (larve ou adulte) ainsi que de leur solubilité dans l'octanol	76
Tableaux	
Tableau 1. Avantages et inconvénients des cires synthétiques	12
Tableau 2. Spécifications techniques de la cire d'abeille utilisée comme additif alimentaire (d'après le Règlement (UE) n°231/2012)	20
Tableau 3. Caractéristiques physico-chimiques des stéarines Radiacid 407® et Radiacid 417® et de la palmitine Radiacid 464®	23

Tableau 4. Liste des pays tiers en provenance desquels il est autorisé d'importer de la cire d'abeille destinée à l'apiculture dans l'UE (situation en janvier 2018).	24
Tableau 5. Liste des substances actives dont l'utilisation (légale ou illégale) comme médicament vétérinaire en apiculture est connue.	26
Tableau 6. Aperçu des interactions entre substances actives sur la santé des abeilles démontrées dans la littérature scientifique.	34
Tableau 7. Les substances actives les plus toxiques par contact pour les abeilles (= présentant les valeurs de DL ₅₀ les plus faibles) parmi celles détectées dans la cire d'abeille.	37
Tableau 8. Les substances actives les plus toxiques par voie orale pour les abeilles (= présentant les valeurs de DL ₅₀ les plus faibles) parmi celles détectées dans la cire d'abeille.	38
Tableau 9. Les substances actives les plus lipophiles (= présentant les valeurs de coefficient de partage 'octanol/eau' (Log P) les plus élevées) parmi celles détectées dans la cire d'abeille.	39
Tableau 10. Limites d'action dans la cire d'abeille refondue déterminées pour les 18 substances actives retenues au point 4.2. selon le scénario n°1 (exposition des larves suite à leur contact étroit avec la cire).	45
Tableau 11. Limites d'action dans la cire d'abeille refondue déterminées pour les 18 substances actives retenues au point 4.2. selon le scénario n°2 (exposition des larves suite à la consommation de gelée royale et de pain d'abeille ayant été contaminés à partir de la cire).	47
Tableau 12. Limites d'action dans la cire d'abeille refondue déterminées pour les 18 substances actives retenues au point 4.2. selon le scénario n°3 (exposition des abeilles adultes suite au malaxage de la cire).	49
Tableau 13. Limites d'action dans la cire d'abeille refondue proposées par le Comité scientifique pour les 18 substances actives retenues au point 4.2.	50

Figures

Figure 1. Voies potentielles de contamination ou d'adultération de la cire d'abeille (belge ou importée) ainsi que ses principaux contaminants potentiels selon qu'ils/elles concernent l'abeille (trait continu), l'apiculteur/fabricant de cire gaufrée (trait discontinu) ou l'apiculteur (trait pointillé).	14
Figure 2. Etapes de la saison apicole impliquant l'utilisation de cire selon qu'elles sont réalisées par l'abeille (trait continu), l'apiculteur/fabricant de cire gaufrée (trait discontinu) ou l'apiculteur (trait pointillé).	16
Figure 3. Influence d'un ajout de stéarine ou de palmitine à la cire d'abeille sur la mortalité des larves d'abeilles élevées sur des rayons constitués de ce mélange (Reybroeck, 2017 et 2018a).	23
Figure 4. Courbes de calorimétrie différentielle à balayage de trois échantillons de cire d'abeille : deux échantillons de cire pure sans stéarine (courbes noire et bleue) fabriquées par l'apiculteur et un échantillon de cire commerciale contenant de la stéarine et associée à une mortalité du couvain (courbe rouge) (Goethals et De Meyer, 2017).	36
Figure 5. Evolution de l'indice d'acidité lors d'un ajout de stéarine (Radiacid 407® ou 417®) ou de palmitine (Radiacid 464®) dans la cire d'abeille (Reybroeck, 2017 et 2018a).	40

Résumé

Avis 18-2018 du Comité scientifique de l'AFSCA relatif au risque pour la santé des abeilles de la contamination et de l'adultération de la cire d'abeille.

Questions

Il est demandé au Comité scientifique de répondre aux questions suivantes :

1. Quelles sont les contaminations et adultérations connues de la cire d'abeille ?
2. Quelles substances sont susceptibles de présenter un risque pour la santé des abeilles/de la colonie suite à la contamination ou l'adultération de la cire (après usage unique ou suite à l'utilisation de cire recyclée) ?
3. Une limite d'action par rapport à la présence éventuelle de ces substances dans la cire peut-elle être proposée afin de préserver la santé des abeilles ?

Méthode

L'avis est fondé sur l'opinion d'experts et sur différentes références scientifiques. En ce qui concerne les résidus de produits phytopharmaceutiques, de biocides et de médicaments vétérinaires, le risque pour la santé des abeilles que posent ces substances a été évalué sur base de trois scénarios d'exposition. Le premier scénario correspond à l'exposition des larves suite à leur contact étroit avec la cire constituant les alvéoles dans lesquelles elles se développent. Le second scénario correspond à l'exposition des larves suite à la consommation de gelée royale et de pain d'abeille ayant été contaminés via la cire lors de leur stockage dans les alvéoles de cire. A ce niveau, la contamination initiale du pollen qui est ramené à la ruche par les abeilles et de la gelée royale lorsqu'elle est produite au sein de la ruche n'a pas été prise en compte. Le troisième scénario correspond à l'exposition des abeilles adultes suite au malaxage de la cire lors de la confection des alvéoles et sur base d'un scénario du pire des cas (consommation (= ingestion) de cire).

Réponses aux questions

1. Le Comité scientifique a identifié plusieurs substances pouvant adultérer ou contaminer la cire d'abeille. Il s'agit principalement de l'adultération de la cire par ajout de stéarine, et de la contamination de la cire par des résidus d'auxiliaires technologiques utilisés dans le cadre de la production de cire gaufrée, par des métaux lourds ou par des résidus de pesticides et de médicaments vétérinaires.
2. Les substances susceptibles de présenter un risque pour la santé des abeilles/de la colonie sont :
 - dans le cadre de l'adultération de la cire : la stéarine et la palmitine,
 - dans le cadre de la contamination de la cire :
 - o les résidus de détergents utilisés comme auxiliaires technologiques dans le cadre de la production de cire gaufrée,
 - o les métaux lourds que sont le cadmium, le cuivre, le plomb et le sélénium, et
 - o les résidus de pesticides et de médicaments vétérinaires suivants : l'acrinathrine, l'amitrazé, le carbofuran, le chlorpyrifos (-éthyl), le coumaphos, la cyfluthrine, la cyperméthrine, le DDE, le DDT, la deltaméthrine, la fluméthrine, l'imidaclopride, le lindane (γ -HCH), le mévinphos, le pyridaben, le tau-fluvalinate, le thiaméthoxame et le thymol.
3. Le Comité scientifique propose les limites d'action suivantes pour les cires d'abeille refondues mises sur le marché :
 - dans le cadre de l'adultération de la cire :
 - o l'indice d'acidité de la cire doit être supérieur ou égal à 17 et inférieur ou égal à 24, et
 - o l'indice d'ester (= indice de saponification - indice d'acidité) de la cire doit être supérieur ou égal à 63 et inférieur ou égal à 87.

- dans le cadre de la contamination de la cire :
 - o en ce qui concerne les métaux lourds :
 - Arsenic : ≤ 3 mg/kg
 - Plomb : ≤ 2 mg/kg
 - Mercure : ≤ 1 mg/kg
 - o en ce qui concerne les résidus de pesticides et de médicaments vétérinaires :
 - Acrinathrine : 0,6 mg/kg
 - Amitraze : 400 mg/kg
 - Carbofuran : 0,4 mg/kg
 - Chlorpyriphos (-éthyl) : 2 mg/kg
 - Coumaphos : 40 mg/kg
 - Cyfluthrine : 0,06 mg/kg
 - Cyperméthrine : 0,3 mg/kg
 - DDE : 40 mg/kg
 - DDT : 40 mg/kg
 - Deltaméthrine : 0,1 mg/kg
 - Fluméthrine : 1,5 mg/kg
 - Imidaclopride : 0,03 mg/kg
 - Lindane (γ -HCH) : 0,09 mg/kg
 - Mévinphos : 0,2 mg/kg
 - Pyridaben : 1,5 mg/kg
 - tau-Fluvalinate : 20 mg/kg
 - Thiaméthoxame : 0,04 mg/kg
 - Thymol : 2 mg/kg

Conclusion

Le Comité scientifique a identifié les substances qui peuvent être présentes dans la cire d'abeille via une contamination ou lors d'une adultération et qui peuvent présenter un risque pour la santé des abeilles. Le Comité scientifique a proposé des limites d'action pour les cires d'abeille refondues mises sur le marché.

Summary

Advice 18-2018 of the Scientific Committee of the FASFC regarding the risk to bee health of contaminated and adulterated beeswax

Questions

The Scientific Committee has been asked to answer the following questions:

1. What are the known beeswax contaminations and adulterations?
2. Which substances are likely to pose a risk to bee/colony health following wax contamination or adulteration (after single use or following the use of recycled wax)?
3. Regarding the possible presence of these substances in wax can an action limit be proposed in order to preserve bee health?

Method

The advice is based on expert opinion and on different scientific references. With regard to plant protection product, biocide and veterinary drug residues, the risk to bee health posed by these substances has been assessed based on three exposure scenarios. The first scenario corresponds to the exposure of larvae following their close contact with the wax constituting the cells in which they develop. The second scenario corresponds to the exposure of larvae following consumption of royal jelly and bee bread that have been contaminated via the wax during storage in the wax cells. At this level, the initial contamination of pollen that is returned to the hive by bees and royal jelly when produced in the hive has not been taken into account. The third scenario corresponds to the exposure of adult bees following the wax mixing during cells preparation and based on a worst-case scenario (consumption (= ingestion) of wax).

Answers to questions

1. The Scientific Committee has identified several substances that may adulterate or contaminate beeswax. Wax is mainly adulterated by adding stearin and is mainly contaminated with residues of processing aids used in the production of beeswax comb foundations, with heavy metals or with pesticide and veterinary drug residues.
2. The substances likely to pose a risk to bee/colony health are:
 - regarding the adulteration of wax: stearin and palmitin,
 - regarding the contamination of wax:
 - o residues of detergents used as processing aids in the production of beeswax comb foundations,
 - o heavy metals such as cadmium, copper, lead and selenium, and
 - o the following pesticide and veterinary drug residues: acrinathrin, amitraz, carbofuran, chlorpyrifos(-ethyl), coumaphos, cyfluthrin, cypermethrin, DDE, DDT, deltamethrin, flumethrin, imidacloprid, lindane (γ -HCH), mevinphos, pyridaben, tau-fluvalinate, thiamethoxam and thymol.
3. The Scientific Committee proposes the following action limits for re-melted beeswax placed on the market:
 - regarding the adulteration of wax:
 - o the acid value of wax should be greater than or equal to 17 and less than or equal to 24, and
 - o the ester value (= saponification value – acid value) of wax should be greater than or equal to 63 and less than or equal to 87.
 - regarding the contamination of wax:
 - o regarding heavy metals:
 - Arsenic : ≤ 3 mg/kg
 - Lead: ≤ 2 mg/kg
 - Mercury: ≤ 1 mg/kg

- regarding pesticide and veterinary drug residues:
 - Acrinathrin: 0,6 mg/kg
 - Amitraz: 400 mg/kg
 - Carbofuran: 0,4 mg/kg
 - Chlorpyrifos(-ethyl) : 2 mg/kg
 - Coumaphos: 40 mg/kg
 - Cyfluthrin: 0,06 mg/kg
 - Cypermethrin: 0,3 mg/kg
 - DDE: 40 mg/kg
 - DDT: 40 mg/kg
 - Deltamethrin: 0,1 mg/kg
 - Flumethrin: 1,5 mg/kg
 - Imidacloprid: 0,03 mg/kg
 - Lindane (γ -HCH): 0,09 mg/kg
 - Mevinphos: 0,2 mg/kg
 - Pyridaben: 1,5 mg/kg
 - tau-Fluvalinate: 20 mg/kg
 - Thiamethoxam: 0,04 mg/kg
 - Thymol: 2 mg/kg

Conclusion

The Scientific Committee has identified substances that may be present in beeswax through contamination or adulteration and may pose a risk to bee health. The Scientific Committee proposed action limits for re-melted beeswax placed on the market.

1. Termes de référence

1.1. Questions

Il est demandé au Comité scientifique de répondre aux questions suivantes :

1. Quelles sont les contaminations et adultérations connues de la cire d'abeille ?
2. Quelles substances sont susceptibles de présenter un risque pour la santé des abeilles/de la colonie suite à la contamination ou l'adultération de la cire (après usage unique ou suite à l'utilisation de cire recyclée) ?
3. Une limite d'action par rapport à la présence éventuelle de ces substances dans la cire peut-elle être proposée afin de préserver la santé des abeilles ?

1.2. Dispositions légales

Directive 92/65/CEE du Conseil du 13 juillet 1992 définissant les conditions de police sanitaire régissant les échanges et les importations dans la Communauté d'animaux, de spermes, d'ovules et d'embryons non soumis, en ce qui concerne les conditions de police sanitaire, aux réglementations communautaires spécifiques visées à l'annexe A section I de la directive 90/425/CEE.

Règlement (CE) n°1069/2009 du Parlement européen et du Conseil du 21 octobre 2009 établissant des règles sanitaires applicables aux sous-produits animaux et produits dérivés non destinés à la consommation humaine et abrogeant le règlement (CE) n°1774/2002 (règlement relatif aux sous-produits animaux).

Règlement (UE) n°142/2011 de la Commission du 25 février 2011 portant application du règlement (CE) n°1069/2009 du Parlement européen et du Conseil établissant des règles sanitaires applicables aux sous-produits animaux et produits dérivés non destinés à la consommation humaine et portant application de la directive 97/78/CE du Conseil en ce qui concerne certains échantillons et articles exemptés des contrôles vétérinaires effectués aux frontières en vertu de cette directive.

Règlement (CE) n°1333/2008 du Parlement européen et du Conseil du 16 décembre 2008 sur les additifs alimentaires.

Règlement (UE) n°231/2012 de la Commission du 9 mars 2012 établissant les spécifications des additifs alimentaires énumérés aux annexes II et III du règlement (CE) n°1333/2008 du Parlement européen et du Conseil.

1.3. Méthode

L'avis est fondé sur l'opinion d'experts et sur différentes références scientifiques. En ce qui concerne les résidus de produits phytopharmaceutiques, de biocides et de médicaments vétérinaires, le risque pour la santé des abeilles que posent ces substances a été évalué sur base de trois scénarios d'exposition. Le premier scénario correspond à l'exposition des larves suite à leur contact étroit avec la cire constituant les alvéoles dans lesquelles elles se développent. Le second scénario correspond à l'exposition des larves suite à la consommation de gelée royale et de pain d'abeille ayant été contaminés via la cire lors de leur stockage dans les alvéoles de cire. A ce niveau, la contamination initiale du pollen qui est ramené à la ruche par les abeilles et de la gelée royale lorsqu'elle est produite au sein de la ruche n'a pas été prise en compte. Le troisième scénario correspond à l'exposition des abeilles adultes suite au malaxage de la cire lors de la confection des alvéoles et sur base d'un scénario du pire des cas (consommation (= ingestion) de cire).

2. Définitions & Abréviations

AFSCA	Agence Fédérale pour la Sécurité de la Chaîne Alimentaire
AMM	Autorisation de mise sur le marché
As	Arsenic
CAS	<i>Chemical Abstracts Service</i>
Cd	Cadmium
CL ₅₀ (concentration létale médiane) par inhalation	Concentration d'une substance dans l'air susceptible d'entraîner la mort de 50 pour cent (50 %) des animaux lorsqu'elle est administrée par inhalation. La CL ₅₀ s'exprime en mg*min/m ³ .
DL ₅₀ (dose létale médiane) orale/par contact	Dose unique d'une substance, obtenue par calcul statistique, susceptible d'entraîner la mort de 50 pour cent (50 %) des animaux lorsqu'elle est administrée par voie orale (OECD, 1998a)/par contact (OECD, 1998b). La DL ₅₀ s'exprime en µg de substance d'essai par abeille.
EINECS	<i>European Inventory of Existing Commercial Chemical Substances</i>
ES	Effets secondaires
FDA	<i>U.S. Food and Drug Administration</i>
HAP	Hydrocarbures aromatiques polycycliques
Hg	Mercure
IBS	Inhibiteurs de la biosynthèse des stérols
ILVO	<i>Instituut voor Landbouw-, Visserij- en Voedingsonderzoek</i>
LMR	Limite maximale de résidus
NNI's	Néonicotinoïdes
OECD	<i>Organisation for Economic Cooperation and Development</i>
OV	Overdose
PABA	Acide para-aminobenzoïque
Pain d'abeille	Pollen imbibé de miel
Palmitine	Préparation commerciale contenant principalement de l'acide palmitique. Elle peut aussi contenir d'autres acides gras en proportion variable suivant l'origine de la graisse dont elle est issue. La stéarine peut être d'origine animale ou végétale.
Pb	Plomb
PBO	Pipéronyl butoxide
PCB	Polychlorobiphényles
PD	Pharmacodynamie
PO	Posologie/dosage
PPDB	<i>Pesticides properties database</i>
RCP	Résumé des caractéristiques du produit
s.a.	Substance active
SciCom	Comité scientifique
Stéarine	Préparation commerciale contenant principalement de l'acide stéarique. Elle peut aussi contenir d'autres acides gras en proportion variable suivant l'origine de la graisse dont elle est issue. La stéarine peut être d'origine animale ou végétale.
Toxicité aiguë par contact	Effets nocifs se produisant dans un délai maximal de 96 heures après l'application locale d'une dose unique de la substance d'essai (OECD, 1998b).

Toxicité aiguë par voie orale	Effets nocifs se produisant dans un délai maximal de 96 heures après l'administration d'une dose unique de la substance d'essai par voie orale (OECD, 1998a).
TRACES	<i>European Trade Control and Expert System</i>
VSDB	<i>Veterinary substances database</i>

Vu les discussions menées durant les réunions du groupe de travail des 23/01/2017, 07/03/2017, 20/04/2017, 07/06/2017, 04/09/2017, 27/10/2017, 19/01/2018, 06/03/2018, 20/04/2018, 04/07/2018 et 31/08/2018, et les séances plénières du Comité scientifique des 18/11/2016, 19/01/2018, 06/07/2018 et 26/10/2018, ainsi que l'approbation électronique définitive du projet d'avis par les membres du Comité scientifique du 14/11/2018,

le Comité scientifique émet l'avis suivant :

3. Contexte

3.1. Eléments explicatifs

3.1.1. Les différents types de cire naturelle et synthétique

Les insectes vivant sur terre sont entourés d'un exosquelette qui leur confère une rigidité structurelle, qui permet l'ancrage des muscles et qui les protège contre la déshydratation. Ceci est possible parce que, chez les insectes terrestres, les cellules épidermiques sous-jacentes, à savoir les œnocytes, produisent de la « cire » qui est déposée à la surface de l'exosquelette - au-dessus de la cuticule - par l'intermédiaire de pores (Hepburn et al., 1991). Cette « cire cuticulaire » est souvent absente chez les insectes aquatiques et manque également chez d'autres arthropodes tels que les « mille-pattes » (diplopedes et chilopodes) qui ne se rencontrent que dans des milieux plutôt humides (Klowden, 2013).

Chez les abeilles domestiques, quatre paires de glandes cirières produisant la « cire d'abeille ou gâteau de cire » se sont aussi développées à partir de ce tissu épidermique. Cette cire d'abeille est essentielle à la colonie d'abeilles. Elle est en effet utilisée afin de construire les rayons destinés à abriter le couvain et à conserver les réserves alimentaires (= pain d'abeille (= pollen imbibé de miel) et miel). Le développement de ces glandes cirières est lié à l'âge et se situe entre le 11^e et le 18^e jour après l'émergence des ouvrières. Chez les abeilles plus âgées, ces glandes s'atrophient progressivement. La cire d'abeille est produite sous la forme de petites écailles. Quelque 1.100 petites écailles de cire (de 3 mm de large et 0,1 mm d'épaisseur chacune) sont nécessaires afin de produire un gramme de cire. La composition de la cire cuticulaire et de la cire d'abeille diffère quelque peu : la cire cuticulaire est constituée de 58 % d'hydrocarbures (contre de 13 à 17 % dans la cire d'abeille). La cire d'abeille est constituée principalement de mono-esters (Blomquist et al., 1980). Le palmitate, le palmitoléate et les esters oléiques d'alcools aliphatiques à longue chaîne (30-32 atomes de carbone) sont les principaux composants de la cire d'abeille. Les écailles de cire sont à l'origine limpides et incolores. Ensuite, la cire devient opaque et blanche, puis jaune, après sa mastication par les abeilles ouvrières de la ruche, suite à l'addition de salive et à l'incorporation inévitable de pollen et de propolis. Enfin, la cire devient progressivement de plus en plus foncée en raison de son âge et de son utilisation, suite à l'incorporation inévitable d'excrétions larvaires et de mues nymphales (Coggshall et Morse, 1984 ; Vergaert, 2017).

La cire d'abeille est produite par toutes les abeilles dites domestiques, c'est-à-dire les insectes du genre *Apis* (Buchwald et al., 2006). Selon Coggshall et Morse (1984), il existe depuis toujours quatre espèces d'abeilles domestiques : *Apis mellifera* (l'abeille européenne), *Apis florea* (l'abeille naine), *Apis cerana* (l'abeille asiatique) et *Apis dorsata* (l'abeille géante). Plus tard, cette liste a été élargie et compte désormais dix espèces réparties en trois groupes (Arias et Sheppard, 2005 et 2006) : les abeilles « géantes » (*Apis dorsata*, *Apis binghami* et *Apis laboriosa*), les abeilles « naines » (*Apis andreniformis* et *Apis florea*) et les abeilles « cavitaires » (*Apis mellifera*, *Apis cerana*, *Apis koschevnikovi*, *Apis nuluensis* et *Apis nigrocincta*).

En outre, la cire d'abeille est également produite par des bourdons du genre *Bombus* (Frazini, 2012) et des abeilles sans dard des genres *Melipona* (Koedam et al., 2002) et *Trigona* (Blomquist et al., 1985). Cette cire diffère quelque peu de la composition de celle produite par les abeilles domestiques, elle a une apparence différente et est souvent mélangée à des matériaux étrangers pour la construction du nid (Coggshall et Morse, 1984).

Un autre type de cire est produit par d'autres insectes parasites des végétaux, les cochenilles (*Coccoidea*), qui produisent une sécrétion cireuse sur leur dos afin de se protéger des ennemis (Hodgson et Peronti, 2012). Il s'agit des espèces *Tachardia lacca* et *Coccus ceriferus*. Cette dernière est élevée commercialement sur des branches de frêne chinois (*Fraxinus chinensis*) (Coggshall et Morse, 1984). La cire de *Coccus ceriferus*, également appelée cire chinoise, consiste principalement en un mélange d'esters d'alcools à longue chaîne (26 et 28 atomes de carbone) et d'acides à longue chaîne (24, 26 et 28 atomes de carbone) (Faurot-Bouchet et Michel, 1964).

Il existe d'autres cires d'origine animale. Le cachalot (*Physeter macrocephalus*) a dans sa tête un organe, l'organe dit du spermaceti, qui est rempli d'une substance cireuse blanche appelée spermaceti ou blanc de baleine. Diverses fonctions sont assignées à l'organe du spermaceti. Par exemple, il pourrait servir comme une sorte de bélier lors des combats entre adversaires mâles (Carrier et al., 2002). Le spermaceti a été utilisé comme combustible au niveau des chandeliers et en cosmétique dans le cadre de la fabrication de pommades. Dans le système digestif du cachalot se forme également de l'ambre, ou ambre gris. Cette substance cireuse assez dure peut avoir une fonction dans le passage intestinal des structures dures et indigestes provenant des seiches, le principal aliment du cachalot. L'ambre gris était utilisé dans l'industrie du parfum et pour la fixation des odeurs (Rowland et Sutton, 2017).

Dans le cadre de l'adultération¹ de la cire d'abeille, le suif, c'est-à-dire la graisse provenant des ovins et bovins, la stéarine, la paraffine et la cire de carnauba sont principalement utilisés (Bonvehi et Bermejo, 2012). La graisse de bœuf est une matière première couramment utilisée dans le cadre de la production de savon, de stéarine et de glycérol. La stéarine, synthétisée commercialement par hydrolyse alcaline des graisses animales ou végétales, est largement utilisée. La paraffine est une graisse d'origine minérale produite à partir des résidus solides du pétrole. La cire de carnauba est une cire d'origine végétale sécrétée par les feuilles du palmier brésilien *Copernicia cerifera* afin de protéger celles-ci contre la déshydratation et les dommages causés par les rayons du soleil. Cette cire dure connaît des applications, entre autres, en cosmétique ainsi que dans la cire pour voiture, le cirage à chaussures et, la cire pour les sols et les meubles.

Autre cire d'origine végétale, la cire de candelilla provient des arbustes *Euphorbia cerifera* et *Euphorbia antisiphilitica*, qui se rencontrent à l'état sauvage entre le Mexique et le Texas (États-Unis). Elle est utilisée comme additif alimentaire (E902) et dans les produits cosmétiques tels que le baume à lèvres.

¹ = Falsification de la composition d'un produit consécutive à l'ajout frauduleux d'un produit de moindre valeur au produit d'origine.

D'autres types de cire sont disponibles sur le marché, à savoir les cires synthétiques. Sous le brevet US6585557, les professeurs J.-P. Remon et F. Jacobs de l'université de Gand ont développé une cire synthétique qui imite la composition de la cire d'abeille (Remon et Jacobs, 2003). Le nom de produit à l'époque était SYNCERA® (n'est plus disponible actuellement) et il était préconisé car, transformé en cire gaufrée, il pouvait être offert à une colonie d'abeilles avec la garantie qu'il était exempt de germes pathogènes et de résidus de pesticides (produits phytopharmaceutiques (= produits pour la protection des plantes) ou biocides). Un produit analogue actuellement encore commercialisé est le PARACERA M®. Les deux produits sont décrits comme de la cire microcristalline et proviennent du raffinage du pétrole. Dans le cadre d'un essai technique du Vlaams Bijenteeltprogramma, lors de la campagne 2013-2016, l'utilisation de PARACERA M® a été comparée à celle d'une véritable cire d'abeille dans plusieurs ruchers éducatifs (Goorix, 2015). L'étude a montré que les colonies d'abeilles avec PARACERA M® se développaient plus lentement et qu'un retard d'environ 1 semaine était constaté au cours de l'entière de l'expérience. D'autres observations indiquent une préférence des abeilles pour la véritable cire d'abeille mais, si seule de la cire synthétique leur est offerte, les abeilles sont capables de la façonner en rayons normaux (de Graaf D., communication personnelle). Ceci concerne une étude à portée limitée qui donne peut-être bien une preuve de concept pour l'utilisation de cire microcristalline en apiculture mais qui n'a pas évalué les conséquences à long terme et/ou d'une utilisation fréquente, aussi bien pour l'abeille que pour l'utilisateur des produits apicoles. L'article met également en garde contre les conséquences du mélange de la véritable cire d'abeille avec de la cire synthétique lors de la refonte des rayons de cire utilisés. Par conséquent, il pourrait apparaître un circuit de cires provenant d'une ruche qui, sans adultération intentionnelle, ne consisteraient pas exclusivement en cire d'abeille d'origine naturelle. Le tableau 1 liste les avantages et inconvénients de la cire synthétique.

Tableau 1. Avantages et inconvénients des cires synthétiques.

Avantages	Inconvénients
Produit exempt de résidus de pesticides utilisés en agriculture et/ou en apiculture	Préférence des abeilles pour le façonnage de la cire gaufrée produite à partir de véritable cire d'abeille, ce qui nécessite de ne leur offrir que de la cire synthétique
Produit exempt de germes pathogènes éventuellement présents dans les colonies d'abeilles	Retard au niveau de la rapidité de façonnage des rayons
Produit exempt de pollution biologique	Aucune connaissance des effets à long terme et/ou lors d'une utilisation répétée pour la colonie
Produit pouvant être produit indépendamment de l'apiculture	Aucune connaissance des effets à long terme et/ou lors d'une utilisation répétée pour l'utilisateur des produits apicoles
Produit à la composition clairement décrite	Risque de pollution involontaire du circuit de récupération de la véritable cire d'abeille
Produit pouvant être produit avec une bonne assurance qualité	Ne correspond pas à la définition de la cire d'abeille d'un point de vue réglementaire
Produit pouvant être disponible sous la forme de pellets/grains/granules, facilitant de la sorte son transport, sa manipulation et sa transformation	

3.1.2. Les différentes voies potentielles de contamination et d'adultération de la cire d'abeille

La figure 1 illustre les voies potentielles de contamination ou d'adultération de la cire d'abeille produite en Belgique ou importée. La composition de cette dernière peut être négativement influencée par la ruche et son environnement, par les pratiques apicoles et, par les pratiques de production et de gestion de la cire gaufrée.

A partir de l'environnement, les abeilles peuvent ramener dans la ruche, par le biais du pollen, du nectar, de l'eau, du miellat et/ou de la propolis qu'elles collectent, des résidus de pesticides, des métaux lourds, des hydrocarbures aromatiques polycycliques (HAP), des dioxines, des polychlorobiphényles (PCB), des retardateurs de flamme bromés ou des résidus d'antibiotiques (ANSES, 2015 ; Bogdanov, 2006). Une partie de ces contaminants peut ensuite migrer vers la cire lorsque, par exemple, le pollen est stocké dans une cellule et se retrouve par conséquent en contact étroit avec la cire. Au sein de la ruche, la gelée royale, le miel et la cire produits par les abeilles pourraient également contenir des contaminants. Une partie de ceux-ci pourrait également migrer vers la cire présente au sein de la ruche et, par conséquent, la contaminer.

Les pratiques apicoles peuvent également conduire à une contamination de la cire (ANSES, 2015 ; Bogdanov, 2006). L'apiculteur est parfois contraint de traiter la colonie à l'aide de médicaments vétérinaires (acaricides) afin de lutter contre certain(e)s parasites ou maladies. Des biocides sont parfois utilisés comme répulsifs pour éloigner les abeilles, par enfumage lors d'une intervention de l'apiculteur au niveau de la ruche, ou les fausses teignes (*Galleria mellonella*), notamment lors du stockage hivernal des cadres de hausse après extraction du miel. D'autres biocides, présentant une action fongicide et/ou insecticide, sont aussi utilisés comme produits de protection du bois des cadres ou de la ruche, soit par l'apiculteur, soit préalablement à l'utilisation du bois en apiculture. Des sels de lithium pourraient également être utilisés à l'avenir par certains apiculteurs dans le cadre de la lutte contre le varroa (Hannus et al., 2017 ; Ziegelmann et al., 2018a et b). Des hydrocarbures aromatiques polycycliques (HAP) peuvent également contaminer la ruche, et donc éventuellement la cire, suite à l'enfumage lors des opérations au niveau de la ruche ou suite à la 'stérilisation' du matériel apicole à la flamme. L'apiculteur est également parfois amené à fournir un apport nutritif à la colonie, soit glucidique (miel, sirop...), soit protéique (pollen...). Ces intrants peuvent être contaminés et une partie de ces contaminants peut être transférée vers la cire présente au sein de la ruche.

Les pratiques de production et de gestion de la cire gaufrée peuvent également être à l'origine de la contamination de la cire. Des contaminants issus du processus de fabrication des cires gaufrées tels que des résidus de détergents ou d'acides peuvent s'y retrouver. Lors du recyclage des cires, un lot fortement contaminé (importé dans l'Union européenne (UE) ou issu du marché interne) par des résidus de pesticides ou de médicaments vétérinaires ou par des métaux lourds pourrait également contaminer d'autres lots de cire pas ou peu contaminée. Le risque d'une fraude à la composition de la cire d'abeille, qui consiste à l'adultérer par ajout d'autres cires ou graisses telles que la stéarine et la paraffine, existe également au niveau de la production. Différentes substances pourraient également migrer vers la cire à partir des matériaux d'emballage et/ou de conditionnement de la cire, par analogie à ce qui est parfois observé dans les denrées alimentaires. Le Règlement (CE) n°1935/2004² précise les exigences auxquelles les matériaux destinés à entrer en contact avec des denrées alimentaires doivent répondre.

² Règlement (CE) n° 1935/2004 du Parlement Européen et du Conseil du 27 octobre 2004, concernant les matériaux et objets destinés à entrer en contact avec des denrées alimentaires et abrogeant les directives 80/590/CEE et 89/109/CEE.

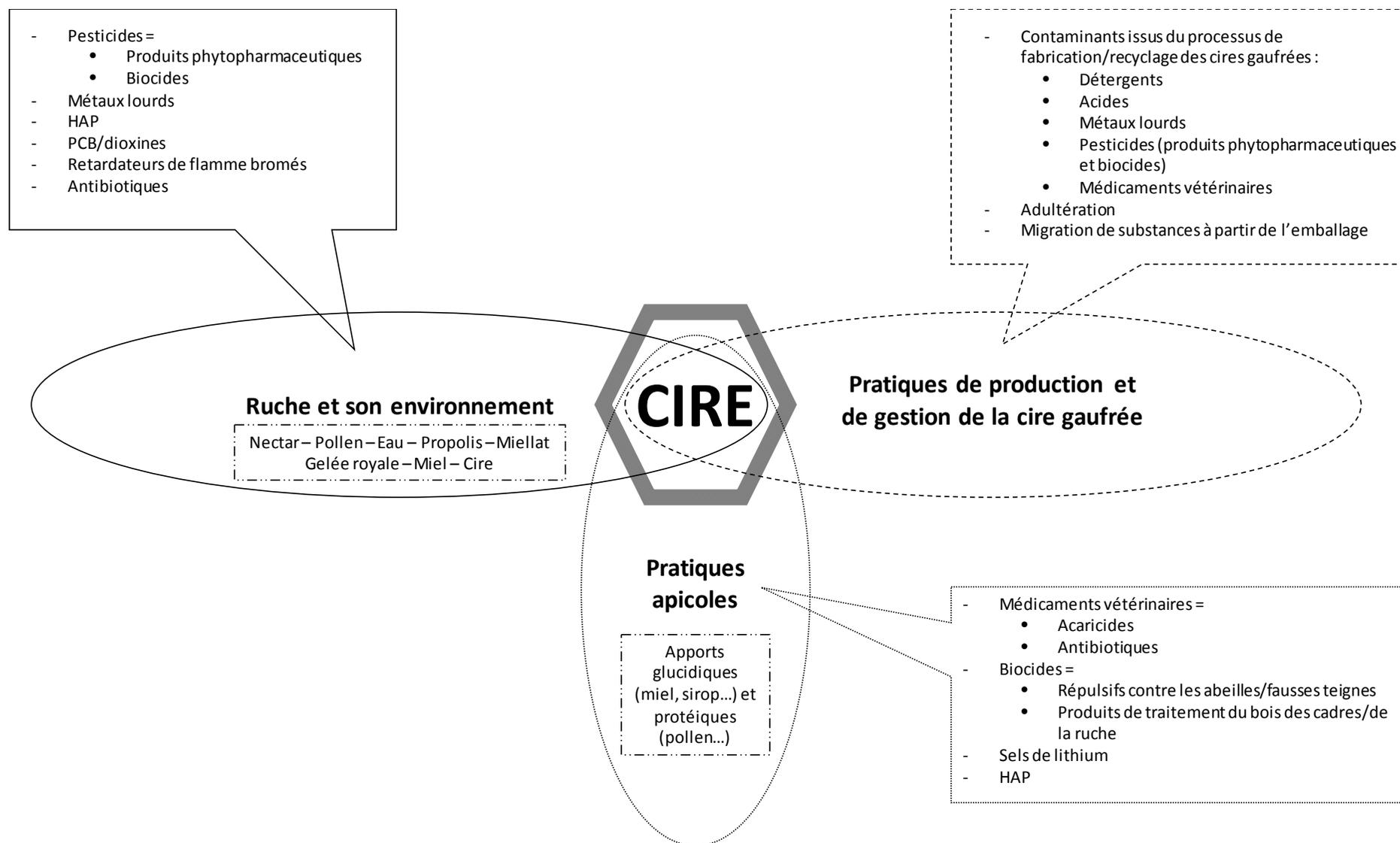


Figure 1. Voies potentielles de contamination ou d'adultération de la cire d'abeille (belge ou importée) ainsi que ses principaux contaminants potentiels selon qu'ils/elles concernent l'abeille (trait continu), l'apiculteur/fabricant de cire gaufrée (trait discontinu) ou l'apiculteur (trait pointillé).

3.1.3. L'exposition des abeilles aux contaminants (via la cire) au cours de leur vie

La figure 2 illustre les différentes étapes de la saison apicole impliquant l'utilisation de cire par l'abeille, l'apiculteur et/ou le fabricant de cire gaufrée.

Le cycle débute par le placement d'un nouveau cadre muni de cire gaufrée dans le corps ou une hausse de la ruche. Les abeilles vont alors confectionner des alvéoles à partir de cette feuille de cire gaufrée. Pour ce faire, les abeilles vont « étirer » la feuille de cire en y ajoutant de la cire nouvellement synthétisée par les abeilles cirières. Lors de cette étape, les abeilles pourraient être exposées aux contaminants éventuellement présents dans la cire gaufrée, voire aussi dans la cire nouvellement synthétisée par les abeilles cirières. Ces alvéoles serviront ensuite soit au développement du couvain, soit au stockage des réserves alimentaires (= pain d'abeille et miel) de la colonie, après avoir été operculées après remplissage. A ce stade, des contaminants éventuellement présents dans la cire pourraient migrer vers le couvain (soit directement, soit indirectement via la nourriture fournie aux larves), et ainsi influencer le développement de la larve, ou vers les réserves alimentaires, et ainsi exposer les abeilles à ces contaminants lors de l'utilisation de ces réserves. Inversement, des contaminants présents dans ces réserves pourraient migrer vers la cire. C'est également au niveau du couvain que des problèmes de développement pourraient être observés suite à l'utilisation de feuille de cire gaufrée adultérée (voir également ci-après). Les alvéoles sont ensuite désoperculées, soit par l'apiculteur en ce qui concerne les cadres de hausse de la ruche remplis de miel pour en extraire le miel, soit par les abeilles en ce qui concerne les cadres du corps de la ruche lors de l'émergence des nouvelles abeilles ou lors de l'utilisation des réserves alimentaires. Enfin, soit les cadres bâtis vides sont réutilisés au sein de la ruche, soit la cire issue de ceux-ci est recyclée en nouvelles feuilles de cire gaufrée, tout comme la cire issue des opercules.

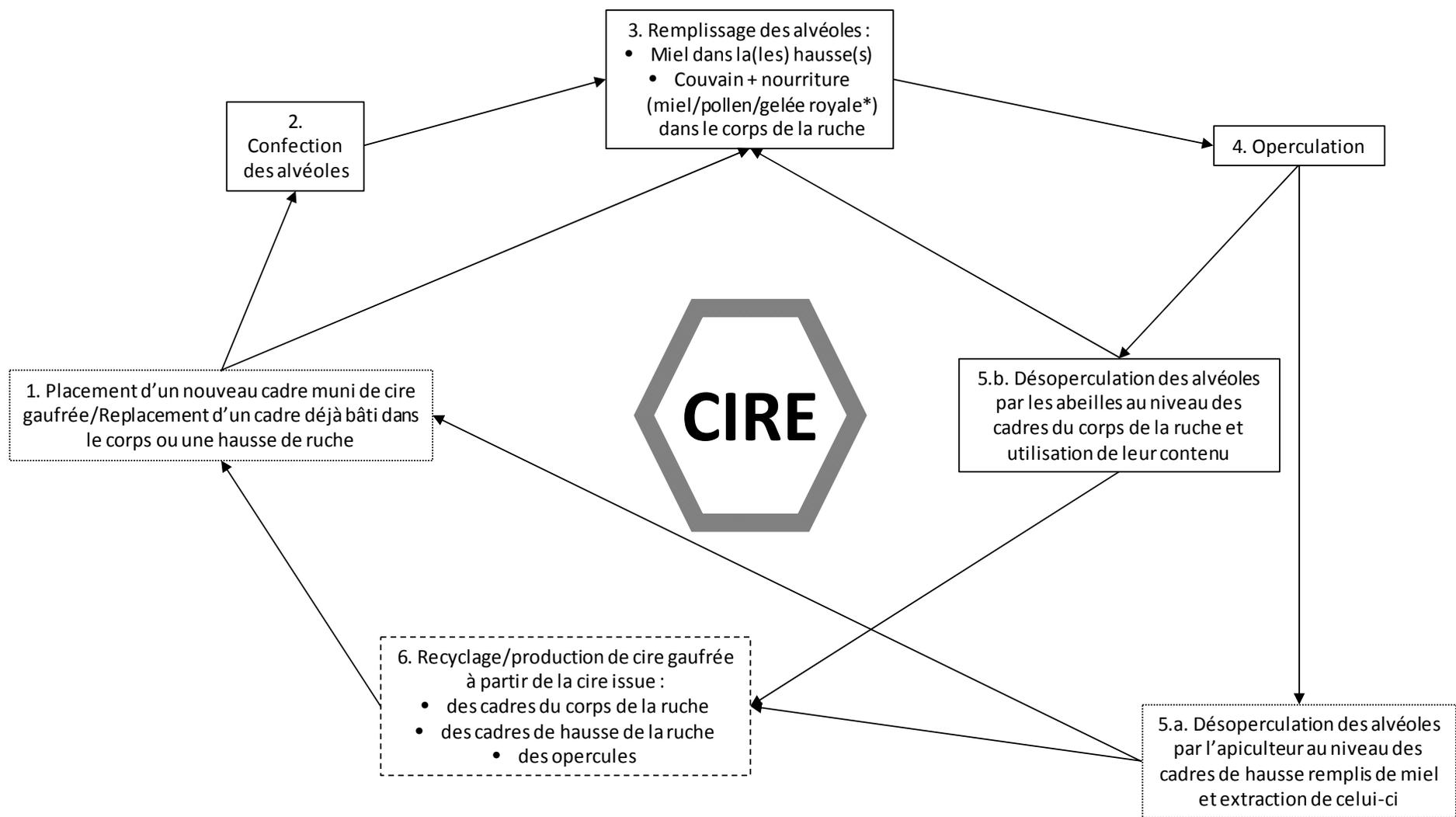


Figure 2. Etapes de la saison apicole impliquant l'utilisation de cire selon qu'elles sont réalisées par l'abeille (trait continu), l'apiculteur/fabricant de cire gaufrée (trait discontinu) ou l'apiculteur (trait pointillé).

Légende :

*Les larves des reines 'baignent' dans la gelée royale et s'en nourrissent exclusivement tout au long de leur développement. Les larves d'abeilles ouvrières et de faux-bourdons n'en reçoivent qu'une quantité limitée et s'en nourrissent exclusivement que lors de leurs trois premiers jours de vie. Ensuite, ces larves reçoivent un mélange de miel, de pollen et de gelée royale. Au stade adulte, seule l'abeille reine de la colonie reçoit de la gelée royale et ce, comme seule nourriture tout au long de sa vie.

3.2. Aspects légaux liés à la composition et à la qualité de la cire au sein de la chaîne alimentaire

Deux législations distinctes s'appliquent à la cire d'abeille selon que celle-ci est destinée ou non à la consommation humaine. Ce sont respectivement la législation alimentaire et celle relative aux sous-produits animaux. Notons que la décision d'écarter la cire de la consommation humaine est irréversible (cf. Règlement (CE) n°1069/2009). Dans ce cas, la cire est alors considérée comme un sous-produit animal. Si la cire entre ensuite dans un procédé de fabrication qui répond aux dispositions d'autres législations (médicaments, dispositifs médicaux et cosmétiques), elle sort du champ d'application de la réglementation sur les sous-produits animaux (cf. Règlement (CE) n°1069/2009).

La législation relative aux sous-produits animaux définit ceux-ci de la manière suivante (cf. Règlement (CE) n°1069/2009) : « *les cadavres entiers ou parties d'animaux, les produits d'origine animale ou d'autres produits obtenus à partir d'animaux, qui ne sont pas destinés à la consommation humaine, y compris les ovocytes, les embryons et le sperme* ». La cire d'abeille correspond à cette définition.

Par analogie avec la description h) de l'article 10 de ce Règlement (CE) n°1069/2009 (cf. ci-dessous), la cire d'abeille devrait être classée en catégorie 3 : « *h) le sang, le placenta, la laine, les plumes, les poils, les cornes, les fragments de sabot et le lait cru issus d'animaux vivants qui n'ont présenté aucun signe de maladie transmissible aux êtres humains ou aux animaux par ce produit;* »

D'autre part, le Règlement (UE) n°142/2011, annexe I, définit les sous-produits apicoles comme suit : « *le miel, la cire, la gelée royale, la propolis ou le pollen qui ne sont pas destinés à la consommation humaine* ». Ce même règlement distingue plusieurs types de cire d'abeille non destinée à la consommation humaine :

- la cire sous forme de rayon de miel, dont l'importation dans l'UE est interdite ;
- la cire destinée à l'alimentation des animaux d'élevage pour laquelle les dispositions de l'article 31 du Règlement (CE) n°1069/2009 s'appliquent ;
- la cire destinée à d'autres fins que l'alimentation des animaux d'élevage, c'est-à-dire pour des usages techniques tels que la fabrication de bougies ou de produits d'entretien, pour laquelle aucune disposition spécifique n'est fixée et ;
- la cire destinée à l'apiculture pour lesquelles les conditions ci-dessous sont d'application.

Les sous-produits apicoles destinés à être utilisés exclusivement en apiculture, dont les cires (y compris celles importées dans l'UE), doivent satisfaire aux exigences spécifiques mentionnées au chapitre IX de l'annexe VIII du Règlement (UE) n°142/2011. En résumé, ils ne peuvent provenir d'une zone faisant l'objet d'une interdiction liée à l'apparition :

- a. de la loque américaine (*Paenibacillus larvae*),
- b. de l'acariose (*Acarapis woodi*),
- c. du petit coléoptère des ruches (*Aethina tumida*), ou
- d. de l'acararien *Tropilaelaps* (*Tropilaelaps* spp).

Les conditions d'importation des sous-produits apicoles sont les suivantes (cf. Règlement (UE) n°142/2011, annexe XIV, chapitre II) :

1. En ce qui concerne les sous-produits apicoles destinés à être utilisés en apiculture autres que la cire d'abeille sous la forme de rayon de miel :
 - a. les sous-produits apicoles doivent satisfaire aux exigences liées aux parasites des abeilles citées ci-avant, et
 - b. les sous-produits apicoles doivent avoir été soumis à une température égale ou inférieure à -12 °C pendant 24 heures au moins, ou

- c. dans le cas de cire d'abeille, la matière doit avoir été transformée selon l'une des méthodes de transformation 1 à 5 ou la méthode de transformation 7 définies à l'annexe IV, chapitre III, et raffinée avant l'importation.
2. En ce qui concerne la cire d'abeille autre que la cire d'abeille sous la forme de rayon de miel, destinée à d'autres fins que l'alimentation des animaux d'élevage : la cire doit avoir été raffinée ou transformée selon l'une des méthodes de transformation 1 à 5 ou la méthode de transformation 7 définies à l'annexe IV, chapitre III, avant l'importation.

Les méthodes de transformation dont question ci-dessus sont les méthodes normalisées décrites à l'annexe IV, chapitre III du Règlement (CE) n°142/2011.

La méthode 7 correspond à toute méthode de transformation autorisée par l'autorité compétente, à qui l'exploitant a démontré que les conditions suivantes sont remplies :

1. détermination des dangers pertinents dans les matières premières, eu égard à l'origine des matières, et des risques potentiels, eu égard au statut zoosanitaire de l'État membre ou de la région ou zone où la méthode doit être appliquée ;
2. capacité de la méthode de transformation de limiter ces dangers à un niveau qui ne présente aucun risque important pour la santé publique et animale ;
3. prélèvement quotidien d'échantillons sur le produit final pendant 30 jours de production, dans le respect des normes microbiologiques suivantes :
 - a. échantillons prélevés directement après le traitement :
 - i) absence de *Clostridium perfringens* dans 1 g des produits
 - b. échantillons prélevés pendant l'entreposage ou à l'issue de celui-ci :
 - i) *Salmonella* : absence dans 25 g : n = 5, c = 0, m = 0, M = 0
 - ii) *Enterobacteriaceae* : n = 5, c = 2, m = 10, M = 300 dans 1 g

où

n = le nombre d'échantillons à tester,

m = la valeur-seuil pour le nombre de bactéries. Le résultat est considéré comme satisfaisant si le nombre de bactéries dans la totalité des échantillons n'excède pas m,

M = la valeur maximale du nombre de bactéries. Le résultat est considéré comme non satisfaisant si le nombre de bactéries dans un ou plusieurs échantillons est supérieur ou égal à M, et

c = le nombre d'échantillons dans lesquels le nombre de bactéries peut se situer entre m et M, les échantillons étant toujours considérés comme acceptables si le nombre de bactéries dans les autres échantillons est inférieur ou égal à m.

La cire d'abeille correspond à un sous-produit animal issu d'animaux vivants en bonne santé, par analogie à la définition des sous-produits animaux de catégorie 3 (article 10, h) du Règlement (CE) n°1069/2009.

Les cires qui ne correspondent pas aux spécifications du Règlement (UE) n°231/2012 (cf. ci-après) et qui ne conviennent dès lors pas à la consommation humaine, notamment car elles contiennent de la stéarine comme corps étranger, doivent être classées en catégorie 2 en application de l'article 9, d) ou h) du Règlement (CE) n°1069/2009³, ce qui a pour conséquences :

- qu'elles ne peuvent circuler dans l'UE que via le système TRACES (*Trade Control and Expert System*) et ;
- qu'elles ne peuvent ni satisfaire aux articles 36 à 40 du Règlement (CE) n°1069/2009, en ce qui concerne les produits destinés à l'apiculture, ni être destinées à la fabrication de cosmétiques.

³ Interprétation belge du Règlement (CE) n°1069/2009, confirmée par la *Health and Food Safety Directorate-General Directorate G, Unit G.2 Animal Health* le 16 juin 2017.

Les cires contaminées avec des résidus de pesticides ou de médicaments interdits dans l'UE sont à considérer comme matières de catégorie 1 en application de l'article 8, d) du Règlement (CE) n°1069/2009.

Les catégories 1 et 2 doivent donc être destinées à la fabrication de bougies ou de produits d'entretien.

Selon la légalisation alimentaire, la cire d'abeille peut être utilisée en tant qu'additif (E 901, « cire d'abeilles blanche et jaune ») dans certaines denrées alimentaires notamment comme agent d'enrobage, pour le traitement en surface ou comme support (cf. Règlement (CE) n°1333/2008 et EFSA (2007)).

Les spécifications techniques de la cire d'abeille utilisée comme additif alimentaire sont reprises dans le tableau 2.

Tableau 2. Spécifications techniques de la cire d'abeille utilisée comme additif alimentaire (d'après le Règlement (UE) n°231/2012).

Synonymes	Cire blanche, cire jaune
Définition	La cire jaune d'abeille est la cire obtenue en fondant les parois des rayons de miel réalisés par l'abeille commune, <i>Apis mellifera</i> , en utilisant de l'eau chaude et en éliminant les matières étrangères. La cire blanche est obtenue en décolorant la cire jaune.
Numéro EINECS	232-383-7
Description	Fragments ou plaques de couleur blanc jaunâtre (cire blanche) ou jaunâtre à brun grisâtre (cire jaune), présentant une cassure au grain fin et non cristalline et dégageant une agréable odeur de miel
Identification	
Intervalle de fusion	Entre 62 °C et 65 °C
Densité	Environ 0,96
Solubilité	Insoluble dans l'eau, modérément soluble dans l'alcool et très soluble dans le chloroforme et l'éther
Pureté	
Indice d'acidité	Pas moins de 17 et pas plus de 24 (mg d'hydroxyde de potassium (KOH)/g de cire d'abeille)
Indice de saponification	87-104 (mg d'hydroxyde de potassium (KOH)/g de cire d'abeille)
Indice de peroxyde	Pas plus de 5
Glycérol et autres polyalcools	Pas plus de 0,5 % (exprimés en glycérol)
Cérésine, paraffines et certaines autres cires	Absence dans 3 g vérifiée par la méthode décrite en annexe du Règlement (UE) n°231/2012
Graisses, cire japonaise, résines et savons	Absence dans 1 g vérifiée par la méthode décrite en annexe du Règlement (UE) n°231/2012
Arsenic	Pas plus de 3 mg/kg
Plomb	Pas plus de 2 mg/kg
Mercur	Pas plus de 1 mg/kg

Actuellement, les législations ci-dessus ne contiennent donc aucune norme relative à la composition et à la contamination de la cire d'abeille visant spécifiquement à protéger la santé des abeilles. Des paramètres analysés en routine dans le cadre du commerce de la cire d'abeille, à savoir l'indice d'acidité (*acid value*) et l'indice d'ester (*ester value*) – ce dernier étant calculé selon la formule « Indice d'ester = indice de saponification – indice d'acidité » – permettent toutefois de détecter une éventuelle adultération de la cire de manière indirecte.

A titre de comparaison et contrairement à la législation relative à la cire d'abeille en tant qu'additif alimentaire qui ne comporte pas de normes en matière de résidus de pesticides, la législation en matière de résidus de produits phytopharmaceutiques dans les denrées alimentaires (Règlement (CE) n°396/2005)⁴ impose le respect de limite maximale de résidus (LMR), allant de 0,005 mg/kg pour le fipronil à 1,00 mg/kg pour le furfural, dans les produits apicoles visant à protéger la santé des consommateurs. Notons que ces LMR ne concernent que le miel. La cire, le pollen et la gelée royale ne sont pas concernés.

3.3. Recyclage, transformation industrielle, importation et commercialisation de la cire d'abeille

Comme indiqué ci-avant, la cire d'abeille provenant des vieux (= utilisés plus de 3 à 5 saisons apicoles) rayons de cire présente une couleur foncée suite à l'incorporation inévitable au cours de son utilisation de pollen, d'excrétions larvaires, de mues nymphales et de propolis. Une surchauffe, due à une exposition à une température trop élevée pendant une période trop longue, peut également endommager et assombrir la cire d'abeille. De plus, la refonte de la cire d'abeille dans des récipients en cuivre, en fer ou en laiton peut aussi entraîner l'assombrissement de la cire d'abeille.

Au niveau de la production industrielle de rayons de cire gaufrée, la cire d'abeille est par conséquent d'abord éclaircie ou blanchie. Pour cela, différents techniques et produits sont utilisés en pratique.

- Eclaircissement ou blanchiment chimique de la cire au moyen d'acides :
Des acides comme l'acide citrique, sulfurique ou oxalique (FAO, 1996) sont ajoutés à la cire d'abeille fondue liquide afin de lier une partie du fer qui est responsable de l'assombrissement de la cire ou pour aider à la sédimentation des impuretés.
- Blanchiment de la cire d'abeille par le peroxyde d'hydrogène :
Du peroxyde d'hydrogène concentré peut être ajouté à la cire chaude afin de la blanchir (FAO, 1996). Parfois, cela se fait en présence d'oxyde de zinc qui agit comme promoteur de blanchiment (Campbell et Le Roy, 1938). Afin d'éviter tout problème dans la fabrication ultérieure de la cire d'abeille, il est important qu'il ne reste pas de peroxyde en excès dans la cire. Pour éviter la présence de composés peroxydes dans le matériau fini, la cire fondue peut également être traitée avec de la terre de blanchiment ou du charbon actif.
- Blanchiment par la lumière du soleil :
L'exposition de la cire d'abeille au soleil dans un extracteur solaire pendant quelques jours entraîne également un éclaircissement de la cire.

L'utilisation d'agents de blanchiment chlorés, tels que l'hypochlorite de sodium ou la chloramine, conduit à des cires qui n'ont pas de couleurs stables et qui retiennent le chlore (Wolfmeier et al., 1996). Par conséquent, les agents de blanchiment au chlore ne sont pas susceptibles d'être utilisés dans la production de cire de qualité alimentaire.

⁴ Règlement (CE) n°396/2005 du Parlement européen et du Conseil du 23 février 2005 concernant les limites maximales applicables aux résidus de pesticides présents dans ou sur les denrées alimentaires et les aliments pour animaux d'origine végétale et animale et modifiant la directive 91/414/CEE du Conseil.

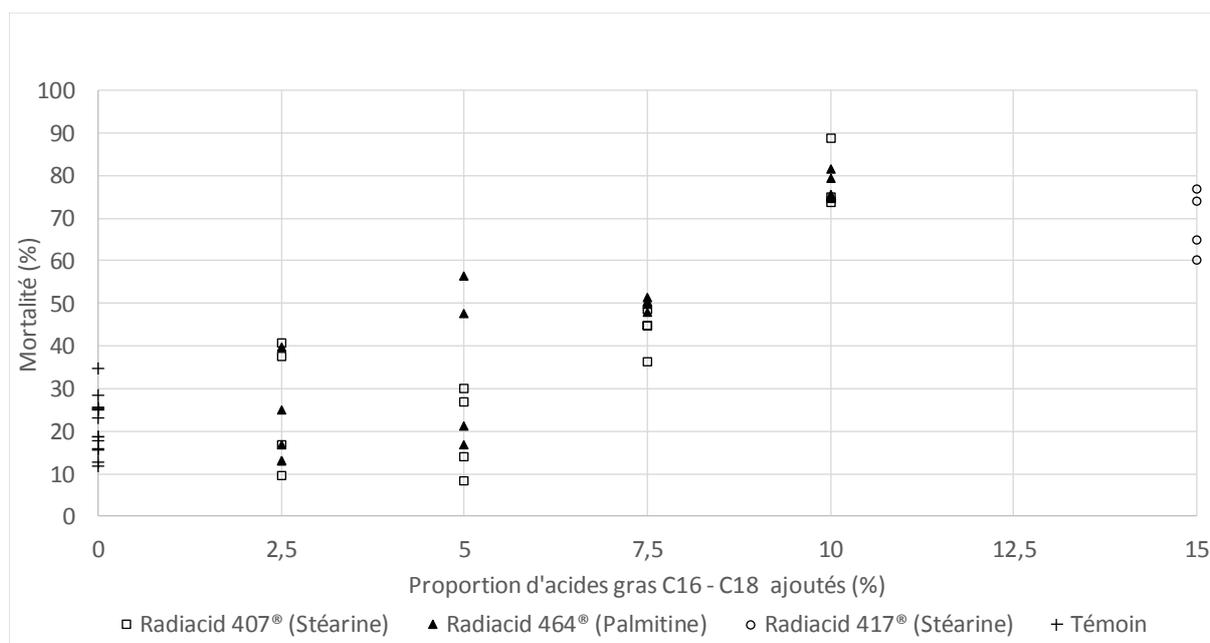
La plupart des producteurs professionnels de cire utilisent de l'acide oxalique afin de décolorer la cire d'abeille de couleur foncée. Il est à noter que le blanchiment est uniquement réalisé afin que les rayons de cire « dorée » soient plus attrayants pour les acheteurs. Ainsi, le blanchiment n'est pas effectué pour améliorer la qualité ou l'attractivité de la cire d'abeille pour les abeilles, mais pour des raisons commerciales. Il est probable qu'une quantité significative d'acide oxalique subsiste si aucune mesure n'est mise en place par le producteur pour l'éliminer lors de la production de la cire gaufrée. A titre d'exemple, des essais réalisés sur différents lots de feuilles de cire gaufrée ayant entraîné un mauvais développement du couvain chez certains apiculteurs belges en 2016 ont montré des teneurs allant de 55 à 272 mg d'acide oxalique/kg de cire (teneurs calculées d'après l'acidité titrable dans l'eau de lavage de la cire (SPF Santé publique, Sécurité de la Chaîne alimentaire et Environnement, données non publiées)). D'un autre côté, pour certains lots de cire d'abeille, une élimination des impuretés physiques est également nécessaire.

En ce qui concerne l'impact (évaluation des risques) du blanchiment selon certaines méthodes (peroxyde d'hydrogène, hypochlorite de sodium, chloramine...), des effets négatifs sur la qualité de la cire sont connus, alors qu'aucune littérature scientifique n'est disponible pour d'autres méthodes (acide oxalique...).

Un autre élément à considérer au niveau de la production et de la commercialisation de la cire d'abeille est le fait que celle-ci est parfois adultérée. La cire d'abeille, produite principalement par l'espèce *Apis mellifera*, est en effet parfois mélangée à de la cire provenant d'autres espèces d'abeilles. Cependant, la plupart des adultérations sont réalisées avec d'autres types de cire/graisse :

- des dérivés de pétrole (graisses minérales), tels que les paraffines et les cires microcristallines ou,
- des cires d'origine végétale (par exemple, la cire de carnauba) ou,
- des graisses (par exemple, le suif) ou leurs dérivés (les acides stéarique et palmitique).

L'adultération de la cire d'abeille vise principalement à générer davantage de profits mais, dans le même temps, elle influence les valeurs de certains paramètres physico-chimiques et peut compromettre la qualité des rayons de cire gaufrée. Lorsqu'elle est régulièrement utilisée dans l'élevage d'abeilles, la cire d'abeille adultérée interfère avec l'élevage et le développement normal du couvain (Bernal et al., 2005). De récentes études (Reybroeck, 2017 et 2018a) ont démontré que l'utilisation de rayons de cire fabriqués à partir d'un mélange de cire d'abeille et de stéarine ou de palmitine avait un effet néfaste sur le développement du couvain d'abeilles ouvrières (cf. figure 3 et tableau 3). Des taux de mortalité supérieurs à 45 % ont été observés pour des mélanges contenant au moins 5 % de palmitine ou au moins 7,5 % de stéarine. Des taux de mortalité avoisinant les 80 % ont également été observés pour des mélanges contenant 10 % d'acides gras ajoutés. Par conséquent, l'utilisation de cire d'abeille mélangée à de la stéarine ou de la palmitine comme matière première pour la production de rayons de cire destinés à être utilisés en apiculture est inappropriée.



Légende : les caractéristiques physico-chimiques des stéarines Radiacid 407® et Radiacid 417® et de la palmitine Radiacid 464® sont reprises au tableau 3.

Figure 3. Influence d'un ajout de stéarine ou de palmitine à la cire d'abeille sur la mortalité des larves d'abeilles élevées sur des rayons constitués de ce mélange (Reybroeck, 2017 et 2018a).

Tableau 3. Caractéristiques physico-chimiques des stéarines Radiacid 407® et Radiacid 417® et de la palmitine Radiacid 464®.

Type de stéarine ou de palmitine	n° CAS	Proportion d'acide palmitique (C16) en %	Proportion d'acide stéarique (C18) en %	Proportion d'autres acides gras (<C16 et >C18) en %	Indice d'acidité (mg KOH/g)	Point de fusion
Radiacid 407® (origine : animale)	67701-03-5	29,9	63,2	6,9	205,4	57-61 °C
Radiacid 417® (origine : huile de palme)	67701-03-5	43,5	54,2	2,3	206,1	56 °C
Radiacid 464® (origine : huile de palme)	67701-03-5	60,0	37,6	2,4	211,4	54,9 °C

En ce qui concerne les importations de cire d'abeille dans l'UE, celle-ci doit, en tant que sous-produit animal, être importée via les postes d'inspection frontaliers et signalée via le système TRACES. Selon la législation européenne (cf. Règlement (CE) n°142/2011), la cire destinée à être utilisée en apiculture ne peut provenir que de certains pays tiers. Le tableau 4 illustre la situation telle qu'elle était en janvier 2018.

Tableau 4. Liste des pays tiers en provenance desquels il est autorisé d'importer de la cire d'abeille destinée à l'apiculture dans l'UE (situation en janvier 2018).

Afrique du Sud	Albanie	Algérie	Ancienne république yougoslave de Macédoine	Argentine
Australie	Bahreïn	Biélorussie	Bosnie-Herzégovine	Botswana
Brésil	Canada	Cameroun	Chili	Chine
Colombie	Costa-Rica	Cuba	Etats-Unis	Ethiopie
Honduras	Hong-Kong	Iles Falkland	Inde	Islande
Israël	Japon	Kenya	Madagascar	Maroc
Maurice	Mexique	Monténégro	Namibie	Nouvelle-Calédonie
Nouvelle-Zélande	Panama	Paraguay	Russie	Salvador
Serbie	Singapour	Suisse	Swaziland	Thaïlande
Tunisie	Turquie	Ukraine	Uruguay	Zimbabwe

En pratique, les cires importées de pays tiers autorisés et mises sur le marché européen entre 2014 et 2017 provenaient d'Argentine, du Cameroun, de Chine, des Etats-Unis, d'Ethiopie, d'Inde, du Mexique, d'Ukraine et de l'Uruguay.

3.4. La contamination de la cire d'abeille par les résidus de produits phytopharmaceutiques et leur toxicité vis-à-vis des abeilles domestiques

Comme expliqué au point 3.1.2., les abeilles domestiques sont susceptibles de ramener à la ruche des résidus de produits phytopharmaceutiques, utilisés notamment en agriculture, par le biais du pollen, du nectar, de l'eau, du miellat et/ou de la propolis qu'elles collectent. Au sein de la ruche, une partie de ces résidus peut migrer vers la cire et, par conséquent, la contaminer.

Peu de données existent quant à l'impact d'une exposition chronique à des doses sous-létales de ces résidus sur la santé des abeilles, et encore moins sur celle des larves. Pour certaines substances, telles que les insecticides systémiques de type « néonicotinoïdes » (= clothianidine, imidaclopride, thiaméthoxame, ...), de plus en plus d'éléments tendent toutefois à prouver qu'une exposition chronique des abeilles individuelles à des doses sous-létales représente un risque plus élevé pour la santé de la colonie d'abeilles qu'une exposition aiguë (Connolly, 2017). L'exposition chronique à des doses sous-létales de néonicotinoïdes entraîne un dysfonctionnement neuronal qui va limiter la capacité de l'abeille à apprendre et à se souvenir (Connolly, 2017). Par conséquent, l'aptitude à la navigation en vol et l'efficacité du butinage s'en trouvent réduites (Connolly, 2017).

Dans la suite de l'avis, le Comité scientifique s'est basé, en première approche, sur les données disponibles relatives à la toxicité aiguë pour les abeilles des substances actives des produits phytopharmaceutiques, à savoir leur dose létale pour 50 % de la population (DL₅₀) 48 h après l'exposition, afin d'évaluer le risque pour les abeilles de leur présence dans la cire. Ces valeurs figurent au tableau de l'annexe 2.

A noter qu'une même substance active peut se retrouver tant dans un produit phytopharmaceutique que dans un biocide, voire dans un médicament vétérinaire.

3.5. Les médicaments vétérinaires utilisés en apiculture

L'apiculteur est parfois contraint de traiter la colonie à l'aide de médicaments vétérinaires (antibiotiques ou acaricides) afin de lutter contre certain(e)s parasites ou maladies. Le tableau 5 liste les substances actives dont l'utilisation (légale ou illégale) comme médicament vétérinaire en apiculture est connue (cf. notamment Reybroeck et al. (2012) et Reybroeck (2018b)). Y sont également précisés l'indication thérapeutique, une ou plusieurs dénomination(s) commerciale(s) (liste non exhaustive) ainsi que le statut légal associé à chaque substance active. L'annexe 1 fournit des informations détaillées relatives à la pharmacodynamie et à la toxicité de ces substances actives.

Plusieurs médicaments repris au tableau 5 n'ont pas d'autorisation de mise sur le marché (AMM) en Belgique. Cependant, certains d'entre eux peuvent être utilisés en apiculture sur base du système de la « cascade » conformément au Règlement (UE) n°2018/470⁵ (cf. également <https://www.afmps.be/fr/veterinaire/medicaments/medicaments/distribution/cascade>). Les médicaments vétérinaires dont l'utilisation est autorisée dans au moins un pays de l'UE sont répertoriés dans le document « EMA/CMDv/497311/2009 rev. 14 » du HMA (*Head of Medicines Agencies*) (HMA, 2018).

⁵ Règlement (UE) n°2018/470 du 21 mars 2018 portant dispositions détaillées sur les limites maximales de résidus applicables aux fins des contrôles de denrées alimentaires issues d'animaux traités dans l'Union européenne en application de l'article 11 de la directive 2001/82/CE.

Tableau 5. Liste des substances actives dont l'utilisation (légale ou illégale) comme médicament vétérinaire en apiculture est connue.

Type de substance active	Substance active	Indication thérapeutique	Dénomination commerciale (liste non exhaustive)	Autorisation de mise sur le marché pour l'apiculture en Belgique ?
Varroacides	Acide oxalique / acide formique	Varroose due à <i>Varroa destructor</i>	VARROMED®	Oui, mais non commercialisé.
	Acide formique	Varroose due à <i>Varroa destructor</i>	MITE AWAY QUICK STRIPS (MAQS)®	Non, mais autorisé dans au moins un autre Etat membre de l'UE (= peut donc être utilisé sur base du système de la « cascade »).
	Acide oxalique	Varroose due à <i>Varroa destructor</i>	OXUVAR®	Oui
			DANY'S BIENENWOHL®	Oui, mais non commercialisé.
			OXYBEE®	Oui, mais non commercialisé.
	Amitraze	Varroose due à <i>Varroa destructor</i>	APIVAR®	Oui, mais non commercialisé.
	Coumaphos	Varroose due à <i>Varroa destructor</i>	PERIZIN®	Non, mais autorisé dans au moins un autre Etat membre de l'UE (= peut donc être utilisé sur base du système de la « cascade »).
			CHECKMITE PLUS®	Non, mais autorisé dans au moins un autre Etat membre de l'UE (= peut donc être utilisé sur base du système de la « cascade »).
	Fluméthrine	Varroose due à <i>Varroa destructor</i>	POLYVAR YELLOW®	Oui
	tau-Fluvalinate	Varroose due à <i>Varroa destructor</i>	APISTAN®	Non, mais autorisé dans au moins un autre Etat membre de l'UE (= peut donc être utilisé sur base du système de la « cascade »).
Thymol	Varroose due à <i>Varroa destructor</i>	APIGUARD®	Oui	
		THYMOVAR®	Oui	

	Thymol/ lévomenthol/ huile d'eucalyptus/ camphre	Varroose due à <i>Varroa destructor</i>	APILIFE VAR®	Oui
Antibiotiques et agents chémothérapeutiques	Chloramphénicol	Le chloramphénicol a été utilisé contre la loque américaine causée par <i>Paenibacillus larvae</i> , notamment en Chine.		Non. Substance dont l'usage est interdit dans l'UE pour les espèces animales productrices de denrées alimentaires.
	Erythromycine	L'érythromycine est utilisée contre la loque européenne causée par <i>Melissococcus plutonius</i> , notamment en Turquie.		Non. Peut toutefois être utilisée en apiculture uniquement sur base du système de la « cascade » car des LMR sont fixées pour d'autres denrées issues d'autres espèces animales.
	Fluoroquinolones (enrofloxacin, norfloxacin)	Il n'existe pas d'indication thérapeutique précise de leur utilisation.		Non. Peuvent toutefois être utilisées en apiculture uniquement sur base du système de la « cascade » car des LMR sont fixées pour d'autres denrées issues d'autres espèces animales.
	Fumagilline	La fumagilline est utilisée contre la nosérose (causée par <i>Nosema apis</i> ou <i>Nosema ceranae</i>), notamment au Canada.	FUMAGILIN-B®	Non. Ne peut également pas être utilisée en apiculture sur base du système de la « cascade » car aucune LMR n'est fixée pour d'autres denrées issues d'autres espèces animales.
	Lincomycine	La lincomycine est utilisée contre la loque américaine causée par <i>Paenibacillus larvae</i> , notamment aux USA et au Canada.	LINCOMIX®	Non. Peut toutefois être utilisée en apiculture uniquement sur base du système de la « cascade » car des LMR sont fixées pour d'autres denrées issues d'autres espèces animales.
	Nitrofuranes (furazolidone)	Il n'existe pas d'indication thérapeutique précise de leur utilisation.		Non. Substances dont l'usage est interdit dans l'UE pour les espèces animales productrices de denrées alimentaires.

	Nitroimidazole (dimetridazole, metronidazole, ronidazole)	Les nitroimidazoles ont été utilisées contre la nosérose (causée par <i>Nosema apis</i> ou <i>Nosema ceranae</i>), notamment en Chine.		Non. Substances dont l'usage est interdit dans l'UE pour les espèces animales productrices de denrées alimentaires.
	Oxytétracycline	L'oxytétracycline est utilisée contre la loque américaine causée par <i>Paenibacillus larvae</i> et la loque européenne causée par <i>Melissococcus plutonius</i> , notamment aux USA, au Canada et au Royaume-Uni.	TETROXY®	Non. Peut toutefois être utilisée en apiculture uniquement sur base du système de la « cascade » car des LMR sont fixées pour d'autres denrées issues d'autres espèces animales.
	Streptomycine	La streptomycine a été utilisée contre la loque américaine causée par <i>Paenibacillus larvae</i> et la loque européenne causée par <i>Melissococcus plutonius</i> , notamment en Chine.		Non. Peut toutefois être utilisée en apiculture uniquement sur base du système de la « cascade » car des LMR sont fixées pour d'autres denrées issues d'autres espèces animales.
	Sulfamides (sulfathiazole)	Les sulfamides sont utilisés contre la loque américaine causée par <i>Paenibacillus larvae</i> et la loque européenne causée par <i>Melissococcus plutonius</i> , mais aussi contre la nosérose (causée par <i>Nosema apis</i> ou <i>Nosema ceranae</i>), notamment en Argentine.		Non. Peuvent toutefois être utilisés en apiculture uniquement sur base du système de la « cascade » car des LMR sont fixées pour d'autres denrées issues d'autres espèces animales.
	Tilmicosine	Reynaldi et al. (2008) rapportent l'utilisation du	MICOTIL®	Non.

		phosphate de tilmicosine contre la loque américaine causée par <i>Paenibacillus larvae</i> en Argentine.		Peut toutefois être utilisée en apiculture uniquement sur base du système de la « cascade » car des LMR sont fixées pour d'autres denrées issues d'autres espèces animales.
	Tylosine	La tylosine est utilisée contre la loque américaine causée par <i>Paenibacillus larvae</i> , notamment aux USA et au Canada.	TYLAN®	Non. Peut toutefois être utilisée en apiculture uniquement sur base du système de la « cascade » car des LMR sont fixées pour d'autres denrées issues d'autres espèces animales.

3.6. Les biocides potentiellement utilisés en apiculture

Tout comme les produits phytopharmaceutiques, les biocides sont des pesticides. Et comme indiqué ci-avant, certaines substances actives de biocides sont aussi utilisées comme substances actives de produits phytopharmaceutiques. La définition officielle européenne d'un biocide est la suivante (cf. Règlement (UE) n°528/2012 du Parlement européen et du Conseil du 22 mai 2012 concernant la mise à disposition sur le marché et l'utilisation des produits biocides) :

« - toute substance ou tout mélange, sous la forme dans laquelle il est livré à l'utilisateur, constitué d'une ou plusieurs substances actives, en contenant ou en générant, qui est destiné à détruire, repousser ou rendre inoffensifs les organismes nuisibles, à en prévenir l'action ou à les combattre de toute autre manière par une action autre qu'une simple action physique ou mécanique,

- toute substance ou tout mélange généré par des substances ou des mélanges qui ne relèvent pas eux-mêmes du premier tiret, destiné à être utilisé pour détruire, repousser ou rendre inoffensifs les organismes nuisibles, pour en prévenir l'action ou pour les combattre de toute autre manière par une action autre qu'une simple action physique ou mécanique.

Un article traité ayant une fonction principalement biocide est considéré comme un produit biocide. »

Le Règlement (UE) n°528/2012 prévoit 4 groupes de biocides en fonction de leur catégorie d'action (1 = action désinfectante, 2 = action de protection, 3 = action de lutte contre les nuisibles, 4 = autres produits biocides) et 22 types de biocides en fonction de leur cible.

Les quatre types de biocides suivants sont retenus car ils contiennent des biocides susceptibles d'être utilisés en apiculture et, par conséquent, de contaminer la cire d'abeille :

- N°3 : Produits d'hygiène vétérinaire
Ils regroupent les produits utilisés pour l'hygiène vétérinaire tels que les désinfectants, les savons désinfectants, les produits d'hygiène buccale ou corporelle, ou ayant une fonction antimicrobienne mais également les produits utilisés pour désinfecter les matériaux et surfaces associés à l'hébergement ou au transport des animaux. Certains de ces produits pourraient être utilisés afin d'améliorer les conditions hygiéniques des ruches ou, de désinfecter les cadres ou les rayons de cire. Ce type de biocides comprend notamment les acides chlorhydrique, décanoïque, formique, lactique, peracétique et salicylique, les amines quaternaires, le chlorure de sodium, la cyanamide, le dioxyde de chlore, l'eau oxygénée, le formaldéhyde, l'hypochlorite de sodium, le peroxyde d'hydrogène et le troclosène sodique (liste non exhaustive).
- N°8 : Produits de protection du bois
Ils regroupent les produits utilisés pour protéger le bois provenant de scieries, y compris pendant la phase de transformation dans la scierie, et les produits visant à protéger le bois par la maîtrise des organismes qui détruisent ou déforment le bois, y compris les insectes. Ce type de biocides comprend à la fois des produits de traitement préventifs et curatifs. Les produits de traitement du bois ont souvent une fonction multiple (insecticide et fongicide). Ils peuvent se retrouver au contact des abeilles via le bois de la ruche et des cadres. Le bois peut en effet avoir été pré-imprégné en usine avant d'être utilisé pour construire les ruches et les cadres. Les bâtiments situés dans les environs de la ruche et autres objets en bois, comme les clôtures, peuvent être protégés par de tels produits. Ce type de biocides comprend notamment l'acide borique, la cyperméthrine, la perméthrine, l'oxyde de cuivre, le propiconazole, le tébuconazole et le thiaclopride (liste non exhaustive).
- N°18 : Insecticides, acaricides et produits utilisés pour lutter contre les autres arthropodes
Ils regroupent les produits utilisés pour lutter contre les autres arthropodes, tels que les insectes (mouches, fourmis, blattes, moustiques, guêpes...), les arachnides et les crustacés, par d'autres moyens qu'en les repoussant ou en les attirant. Ils contiennent des substances dont

l'action est insecticide ou acaricide, souvent présentées sous forme d'aérosols ou de diffuseurs de vapeurs mais aussi sous forme d'appâts, de colliers antipuces ou, de lotions et shampoings à appliquer au contact de la peau. Ce type de biocides comprend notamment l'acétamipride, la chlothianidine, la cyfluthrine, la cyperméthrine, la deltaméthrine, le fipronil, l'imidaclopride, la perméthrine, les pyréthrine et pyréthroïdes, le pyriproxyfen, le spinosad et le thiaméthoxame (liste non exhaustive).

- N°19 : Répulsifs et appâts

Ils regroupent les produits utilisés pour lutter contre les organismes nuisibles (qu'il s'agisse d'invertébrés comme les puces ou de vertébrés comme les oiseaux, les poissons ou les rongeurs), en les repoussant ou en les attirant, y compris les produits utilisés, pour l'hygiène humaine ou vétérinaire, directement sur la peau ou indirectement dans l'environnement de l'homme ou des animaux. Les répulsifs et appâts sont majoritairement des répulsifs pour les insectes en général, et notamment les mouches, les moustiques, les poux, les puces et les tiques. Ils sont en général à appliquer directement sur le corps de l'animal ou de l'humain ou incorporés dans un bracelet. Les produits destinés à faciliter le travail lors de l'ouverture des ruches, tels que la fumée, proviennent de matières, telles que le bois, la paille et le tabac, qui sont « mises sur le marché » pour d'autres destinations qu'afin de fabriquer de la fumée répulsive. Actuellement, aucun répulsif ou appât spécifiquement destiné à la lutte contre les parasites des abeilles n'est enregistré comme biocide. Ce type de biocides comprend notamment l'acide décanoïque, le citriodiol, le géranol, l'icaridine, les extraits de margosa et le diéthyltoluamide (liste non exhaustive).

Selon Nature et Progrès (2012), la voie d'exposition des abeilles aux résidus de biocides la plus probable serait les eaux de ruissellement contaminées par des produits solubles ou émulsifiés, notamment ceux utilisés pour le traitement du bois. Cette étude a également mis en évidence le manque de rigueur dans l'étiquetage de certains produits biocides par rapport aux risques pour les insectes utiles. Ce constat est en particulier vrai pour les produits de traitement du bois qui contiennent à la fois fongicides et insecticides.

Si on ne peut exclure une contamination ponctuelle de ruches suite à un usage inapproprié de biocides, il semble cependant peu probable que ces derniers constituent une source de contamination significative de la cire d'abeille.

A noter également qu'aucun produit utilisé en apiculture (pour l'enfumage des ruches, comme répulsif ou appât destiné à la lutte contre les parasites des abeilles) n'est enregistré comme biocide.

3.7. Interactions entre substances actives et conséquences sur la santé des abeilles domestiques

Outre l'action des substances actives individuelles, des interactions entre facteurs chimiques sur la santé des abeilles sont décrites dans la littérature.

L'exposition à différents xénobiotiques de même mode d'action ou de site cible devrait résulter en une toxicité additive (Yu (2008) et Zhu et al. (2014), cités par Johnson (2015)). Des mélanges de xénobiotiques aux modes d'action différents peuvent aussi produire des effets synergiques ou antagonistes et une augmentation ou une réduction inattendue de leur toxicité (Johnson et al. (2013), cité par Johnson (2015)).

Zhu et al. (2014) ont défini i) l'interaction **additive** comme l'action simultanée de composés pour lesquels la réponse observée chez la larve d'abeille à un mélange de ceux-ci est égale à la somme des réponses individuelles, ii) l'interaction **synergique** comme l'action simultanée de composés pour lesquels la réponse observée chez la larve d'abeille à un mélange de ceux-ci est significativement

supérieure à la somme des réponses individuelles et iii) l'interaction **antagoniste** comme l'action simultanée de composés pour lesquels la réponse observée chez la larve d'abeille à un mélange de ceux-ci est significativement inférieure à la somme des réponses individuelles. Selon Johnson et al. (2013), les interactions additives apparaissent probablement quand les composés agissent par un mode d'action commun, tandis que les interactions synergiques sont le résultat de modes d'action différents. Cependant, la littérature ne fait parfois mention que d'interactions antagonistes et certains auteurs semblent utiliser de manière interchangeable les termes 'synergie' et 'interaction'.

Johnson et al. (2009) (cité par Johnson et al. (2010)) ont observé une forte augmentation de la toxicité du tau-fluvalinate chez des abeilles de 3 jours préalablement traitées au coumaphos et une augmentation modérée de la toxicité du coumaphos chez des abeilles traitées préalablement au tau-fluvalinate. Le synergisme peut résulter d'une compétition d'accès au cytochrome P450, enzyme de détoxification des xénobiotiques. Les auteurs suggèrent qu'une mortalité peut survenir lors de la présence simultanée de ces substances à des doses individuelles normalement sous-létales.

Johnson et al. (2013) ont testé les effets d'acaricides, de fongicides, d'antimicrobiens et leurs interactions sur la mortalité des ouvrières. La toxicité du tau-fluvalinate est augmentée (synergisme) en présence des acaricides coumaphos, fenpyroximate, amitraze, thymol et acide oxalique, en présence des fongicides pyraclostrobine, pyraclostrobine+boscalid, chlorothalonil et prochloraze et en présence des antimicrobiens oxytétracycline et fumagilline. Le coumaphos a montré des effets antagonistes avec le tau-fluvalinate, le fenpyroximate, l'amitraze et le prochloraze. Le fenpyroximate a montré des effets synergiques avec le coumaphos, l'amitraze, l'acide oxalique, le pyraclostrobine, le prochloraze, l'oxytétracycline et la fumagilline. L'amitraze n'a interagi avec aucun fongicide ou antimicrobien mais a par contre montré un effet antagoniste avec l'acide oxalique. Le thymol a montré des effets antagonistes avec le tau-fluvalinate, le coumaphos, l'acide oxalique, le chlorothalonil et le prochloraze. De plus, des effets antagonistes entre les fongicides IBS (inhibiteurs de la biosynthèse des stérols)⁶ et le tau-fluvalinate ont été mis en évidence et des interactions similaires sont suggérées avec le coumaphos et le fenpyroximate. Le pipéronyl butoxide a augmenté (synergisme) la toxicité du tau-fluvalinate, du coumaphos, du fenpyroximate, mais pas de l'amitraze et du thymol. Les auteurs recommandent d'éviter l'utilisation conjointe d'acaricides détoxifiés par le cytochrome P450, en particulier quand les abeilles sont également exposées aux fongicides IBS. Zhu et al. (2014) rapportent une synergie entre le chlorothalonil et le coumaphos. Cependant, l'addition de coumaphos a significativement réduit (antagonisme) la toxicité d'un mélange fluvalinate/chlorothalonil.

La synergie des xénobiotiques chez l'abeille mellifère a été revue par Glavan et Bozic (2013). Outre les interactions entre inhibiteurs du cytochrome P450 mentionnées ci-dessus, les auteurs citent des synergies entre le pipéronyl butoxide et des pyréthroïdes, des néonicotinoïdes et un carbamate. Des synergies sont également citées entre des fongicides IBS et des néonicotinoïdes, pyréthroïdes et varroacides, d'une part, et entre des fongicides inhibiteurs mitochondriaux et des varroacides, d'autre part. Tous les mécanismes de synergie ne sont pas connus.

Becker (2016) suggère une synergie entre le fongicide propiconazole et l'insecticide chlorpyrifos basée sur la DL₅₀ envers *Apis mellifera*.

Une synergie sur la mortalité des bourdons est rapportée entre l'imazalil (IBS) et le fipronil, la cyperméthrine et le thiaméthoxame, mais pas avec l'imidaclopride (Raimets et al., 2018).

⁶ Chez le champignon, les fongicides IBS empêchent la synthèse des stérols, et en particulier celle de l'ergostérol (composant de la membrane des cellules fongiques), en inhibant l'activité enzymatique de la 14- α -déméthylase, enzyme du type cytochrome P450 également appelée CYP51p.

L'oxytétracycline, en présence d'amitrazé, déclenche la mort programmée des cellules dans l'intestin des abeilles (Gregorc et Bowen 2000, cité par ANSES (2015)). Hawthorne et Dively (2011, cité par ANSES (2015)) ont montré que l'oxytétracycline augmente (synergisme) significativement la mortalité des abeilles exposées au coumaphos et au tau-fluvalinate.

Cizelj et al. (2016) ont investigué la réponse immunitaire moléculaire des ouvrières à différents stades de développement exposées au coumaphos et au prochlorazé (fongicide), individuellement ou en combinaison. Pour tous les traitements, un effet négatif a été observé chez les larves prépupaires tandis qu'un effet stimulant était observé chez les adultes. L'effet principal de la combinaison était une stimulation des gènes abaecin et defensin-1 (antimicrobiens) chez l'adulte. Les auteurs concluent que des modifications dans l'expression des gènes peuvent déprimer l'immunité des abeilles et augmenter la sensibilité aux pathogènes.

Le tableau 6 donne un aperçu synthétique des différentes combinaisons de substances actives pour lesquelles des interactions ont été démontrées et sont évoquées ci-dessus.

Tableau 6. Aperçu des interactions entre substances actives sur la santé des abeilles démontrées dans la littérature scientifique.

	Acétamipride	Acide oxalique	Amitraze	Atrazine	Boscalid	Carbendazime	Carbofuran	Chlorothalonil	Chlorpyrifos	Coumaphos	Cyfluthrine	Cyperméthrine	Cyprodinil	Deltaméthrine	Diméthoate	Fenpyroximate	Fluméthrine	Flusilazole	tau-Fluvalinate	Fipronil	Fumagilline	Imazalil	Imidaclopride	Oxytétracycline	Perméthrine	PBO	Prochloraze	Propiconazole	Pyraclostrobine	Tébuconazole	Thiaclopride	Thiaméthoxame	Thymol			
Acétamipride	X					X																				X	X	X								
Acide oxalique		X							X							X		X																	X	
Amitraze			X						X							X		X						X												
Atrazine				X			X																													
Boscalid					X														X																	
Carbendazime						X					X		X				X		X					X								X				
Carbofuran							X																												X	
Chlorothalonil								X			X								X																X	
Chlorpyrifos									X																											X
Coumaphos										X					X	X		X	X					X			X	X	X		X				X	
Cyfluthrine											X																X									
Cyperméthrine												X							X				X													
Cyprodinil													X																					X		
Deltaméthrine														X														X	X							
Diméthoate															X																					
Fenpyroximate																	X	X		X				X		X	X	X	X	X	X					
Fluméthrine																	X																			
Flusilazole																		X										X	X							
tau-Fluvalinate																			X					X		X	X	X	X	X					X	
Fipronil																				X																
Fumagilline																					X															
Imazalil																						X														X
Imidaclopride																											X	X	X							
Oxytétracycline																																				
Perméthrine																											X									
PBO																																				
Prochloraze																																				X
Propiconazole																																				X
Pyraclostrobine																																				
Tébuconazole																																				X
Thiaclopride																																				
Thiaméthoxame																																				
Thymol																																				

Légende : X = une interaction a été démontrée ; PBO = pipéronyl butoxide.

4. Réponse aux questions

Le présent avis traite spécifiquement de l'exposition des abeilles à une cire d'abeille adultérée et/ou contaminée, et des conséquences de celle-ci sur leur santé. L'avis 12-2015 (SciCom, 2015) traitait quant à lui de l'exposition des consommateurs de miel et de cire d'abeille aux contaminants présents dans cette dernière.

4.1. Quelles sont les contaminations et adultérations connues de la cire d'abeille ?

En 2016, certains apiculteurs belges ont constaté un mauvais développement du couvain sur des feuilles de cire gaufrée issues du commerce. Cette cire contenait des résidus de pesticides (pipéronyl butoxide (PBO), néonicotinoïdes (NNI's), tau-fluvalinate, coumaphos, propiconazole), des résidus de détergents, des résidus d'acide oxalique et des contaminants environnementaux (HAP, Pb). En outre, tous les lots de cette cire incriminée présentaient également un indice de saponification trop élevé, probablement consécutif à une adultération par de la stéarine.

La présence de résidus de détergents s'explique par le fait que ceux-ci sont utilisés comme auxiliaires technologiques, tout comme l'acide oxalique, au niveau du procédé de fabrication de la cire gaufrée.

Outre l'ajout de stéarine dont il est question ci-dessus, la cire d'abeille peut également être adultérée par l'ajout frauduleux d'autres cires/matières grasses d'origine minérale (paraffine), animale (cire de cochenille, ...) ou végétale (cire de carnauba, ...) (cf. point 3.1.1.).

La cire d'abeille peut également être contaminée par des métaux lourds indirectement via la pollution environnementale (air, eau, sol) ramenée à la ruche par les abeilles, à travers le pollen et le nectar qu'elles collectent, ou directement via certaines pratiques apicoles. L'arsenic (As), le cadmium (Cd), le plomb (Pb) et le mercure (Hg) sont les principaux métaux lourds toxiques associés à une pollution environnementale. Cependant, la cire d'abeille est rarement analysée par rapport aux métaux lourds, comparativement aux autres matrices apicoles, et peu de données sont donc disponibles (Bogdanov, 2006 ; Formicki et al., 2013 ; Tlak Gajger et al., 2016).

En ce qui concerne les résidus de produits phytopharmaceutiques, de biocides et de médicaments vétérinaires, Wilmart et al. (2016) listent les substances qui ont déjà été détectées dans la cire et rapportées dans la littérature scientifique. Cette liste a été complétée par les résultats des études récentes de Calatayud-Vernich et al. (2017), Daniele et al. (2018) et El Agrebi et al. (2018a, b et c). Le tableau repris à l'annexe 2 donne un aperçu des substances chimiques détectées dans la cire d'abeille selon différentes références scientifiques, de leur toxicité aiguë par contact et par voie orale pour les abeilles ainsi que de leurs propriétés de solubilité dans l'eau et dans l'octanol.

Malgré le fait qu'un brevet (Hannus et al., 2017) existe désormais en Allemagne pour l'utilisation de sels de lithium dans le cadre de la lutte contre le varroa, Ziegelmann et al. (2018a et b) précisent que ces composés ne s'accumuleront pas dans la cire d'abeille, étant donné que ces derniers sont solubles dans l'eau. C'est la raison pour laquelle ces contaminants potentiels ne sont pas retenus dans la suite de l'avis.

4.2. Quelles substances sont susceptibles de présenter un risque pour la santé des abeilles/de la colonie suite à la contamination ou l'adultération de la cire (après usage unique ou suite à l'utilisation de cire recyclée) ?

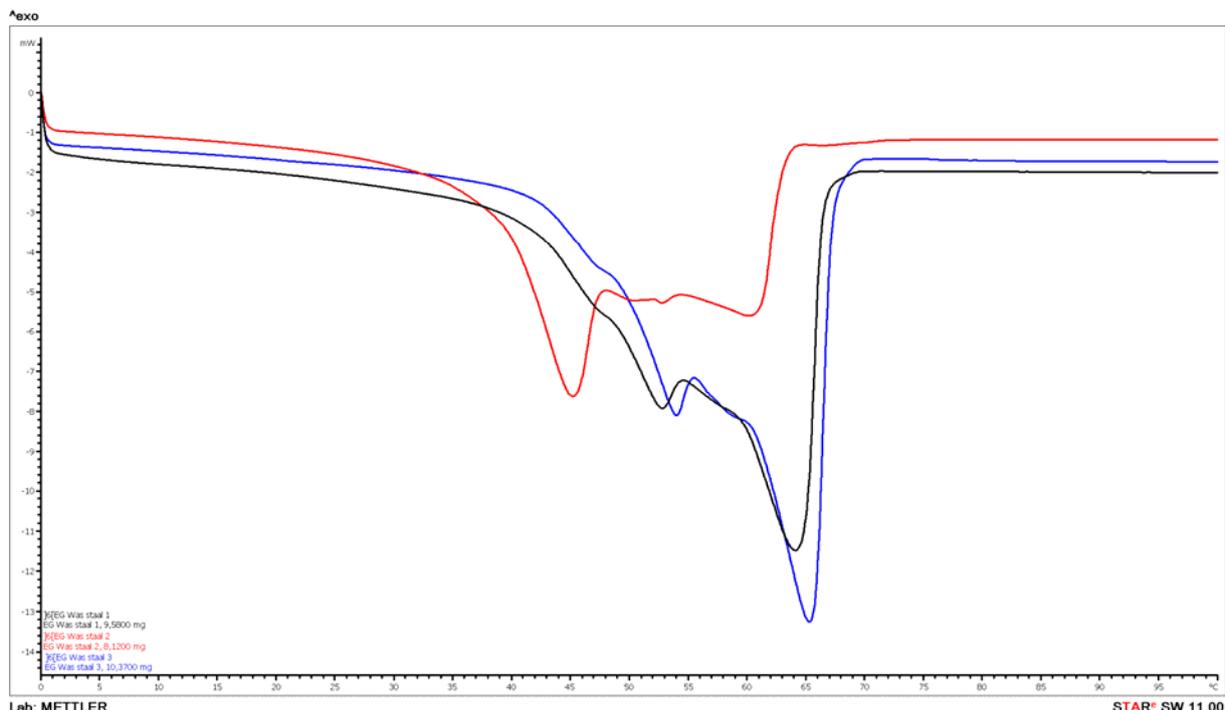
En ce qui concerne l'adultération de la cire d'abeille par ajout d'acides gras, les études réalisées par l'ILVO (Reybroeck, 2017 et 2018a) ont démontré qu'une mortalité du couvain d'abeilles ouvrières

supérieure à 45 % peut survenir dès l'ajout de 5 % de palmitine ou de 7,5 % de stéarine à la cire (cf. figure 3). Cette hausse de la mortalité du couvain s'explique par le fait que :

- les acides gras modifient le comportement de la cire par rapport à la température, et
- les acides gras modifient les interactions existant entre la cire et les larves, d'une part, et la cire et le pain d'abeille, d'autre part.

Les points de fusion de la stéarine et de la palmitine sont respectivement situés dans les intervalles de températures 57-61 °C et 54-56 °C. A titre de comparaison, le point de fusion de la cire d'abeille se situe dans l'intervalle de températures 62-65 °C. Le point de fusion de la cire adultérée est dès lors modifié. Cette cire commence à fondre à partir de $\pm 32-33$ °C, alors que la température au niveau du couvain varie de 33,8 °C à 37 °C au niveau de la ruche (Fahrenholz et al., 1989). A titre d'illustration, la figure 4 (Goethals et De Meyer, 2017) générée par le logiciel d'analyse thermique STARe® (N.V. Mettler-Toledo S.A.) lors d'une calorimétrie différentielle à balayage (*Differential Scanning Calorimetry* ou DSC) indique en effet qu'une cire d'abeille contenant de la stéarine et associée à une mortalité du couvain (correspondant à la courbe rouge) présente un flux thermique (mW) négatif maximal à la température de 45 °C. En d'autres termes, la cire contenant de la stéarine entre en fusion vers $\pm 32-33$ °C, ce qui nécessite la consommation de chaleur (d'où le flux thermique négatif), et est complètement liquide vers ± 45 °C. Au contraire, la cire d'abeille pure (courbes noire et bleue) n'est complètement liquide que vers ± 65 °C.

La stéarine modifierait aussi les interactions entre la cire et les larves, d'une part, et la cire et le pain d'abeille, d'autre part. La stéarine de la cire adultérée pourrait ainsi, d'une part, favoriser la migration des contaminants de la cire vers la larve ou vers le pain d'abeille et, d'autre part, favoriser la perméabilité de la cuticule de la larve à ces contaminants.



Légende : flux thermique en ordonnée (en milliwatts (mW)) et température en abscisse (en degré Celsius (°C)).

Figure 4. Courbes de calorimétrie différentielle à balayage de trois échantillons de cire d'abeille : deux échantillons de cire pure sans stéarine (courbes noire et bleue) fabriquées par l'apiculteur et un échantillon de cire commerciale contenant de la stéarine et associée à une mortalité du couvain (courbe rouge) (Goethals et De Meyer, 2017).

Au contraire des acides gras, l'adultération de la cire d'abeille par l'ajout de paraffine semble ne pas influencer négativement ni la santé générale de la colonie d'abeilles, ni le développement du couvain en particulier (Semkiw et Skubida, 2013). Toutefois, différentes compositions chimiques existent probablement au niveau de la paraffine. Un effet néfaste éventuellement associé à un autre type de paraffine que celui étudié par ces auteurs ne peut dès lors être exclu.

Au niveau des auxiliaires technologiques, le Comité scientifique constate qu'aucun des détergents utilisés dans le cadre de la production des feuilles de cire gaufrée ayant entraîné un mauvais développement du couvain chez certains apiculteurs belges en 2016 et détectés dans cette dernière n'a fait l'objet d'une étude de toxicité spécifiquement par rapport à l'abeille. Or, ceux-ci pourraient être directement toxiques pour les abeilles (Reybroeck, 2016) mais également augmenter la toxicité de certains résidus (notamment de néonicotinoïdes) potentiellement présents dans la cire (synergisme). Cela a notamment été démontré par Sims et Appel (2007) pour la blatte germanique (*Blattella germanica*) et plusieurs surfactants de type « éthoxylates d'alcool linéaires ».

L'acide oxalique, comme indiqué au point 3.3., est également utilisée comme auxiliaire technologique afin de blanchir les cires. Le Comité scientifique estime que la contribution en acide oxalique sera a priori nettement inférieure à un traitement vétérinaire de la colonie à l'acide oxalique (cf. également point 3.5.). De plus, Aliano et al. (2006) ont démontré que l'acide oxalique ne présente qu'une faible toxicité aiguë pour l'abeille.

Au niveau des médicaments vétérinaires, les effets de l'exposition aux substances actives dans leur formulation commerciale sont connus, aussi bien dans les conditions normales d'utilisation que de surdosage (cf. annexe 1).

En ce qui concerne les résidus de produits phytopharmaceutiques et de biocides, étant donné que peu de données existent quant à l'impact d'une exposition chronique à des doses sous-létales sur la santé des abeilles, le Comité scientifique s'est basé, en première approche, sur les données disponibles relatives à la toxicité aiguë des substances actives, à savoir leur DL₅₀ 48 h après l'exposition, afin d'évaluer le risque pour les abeilles de leur présence dans la cire. Parmi les résidus de pesticides et de médicaments vétérinaires déjà détectés dans la cire selon différentes références scientifiques, les substances actives les plus toxiques pour les abeilles, sur base de leur toxicité aiguë, sont indiquées en rouge dans le tableau repris à l'annexe 2.

Sur base de la toxicité aiguë et de la DL₅₀ 48 h après l'exposition par contact (sur base des valeurs de la PPDB/VSDDB), les 5 substances actives les plus toxiques par ordre décroissant sont la **cyfluthrine**, la **deltaméthrine**, la **cyperméthrine**, le **pyridaben** et le **thiaméthoxame** (cf. tableau 7).

Tableau 7. Les substances actives les plus toxiques par contact pour les abeilles (= présentant les valeurs de DL₅₀ les plus faibles) parmi celles détectées dans la cire d'abeille.

Substance active	DL ₅₀ par contact (µg/abeille)
Cyfluthrine (insecticide)	0,001
Deltaméthrine (insecticide)	0,0015
Cyperméthrine (insecticide)	0,02
Pyridaben (insecticide/acaricide)	0,024
Thiaméthoxame (insecticide)	0,024

A remarquer que Stoner et Eitzer (2013) indiquent une valeur de toxicité aiguë de 0,01 µg/abeille pour l'insecticide **chlorpyrifos (-éthyl)**. La méthode d'essai en laboratoire conçue pour évaluer cette

toxicité aiguë par contact des pesticides pour les abeilles domestiques ouvrières adultes et reconnue internationalement est décrite par l'OECD (1998b).

Sur base de la toxicité aiguë et de la DL₅₀ 48 h après l'exposition par voie orale (sur base des valeurs de la PPDB/VSDB), les 5 (+ 1 *ex æquo*) substances les plus toxiques par ordre décroissant sont l'**imidaclopride**, le **thiaméthoxame**, le **lindane (γ-HCH)**, la **cyperméthrine**, la **cyfluthrine** et le **carbofuran** (cf. tableau 8).

Tableau 8. Les substances actives les plus toxiques par voie orale pour les abeilles (= présentant les valeurs de DL₅₀ les plus faibles) parmi celles détectées dans la cire d'abeille.

Substance active	DL ₅₀ par voie orale (µg/abeille)
Imidaclopride (insecticide)	0,0037
Thiaméthoxame (insecticide)	0,005
Lindane (γ-HCH) (insecticide/acaricide)	0,011
Cyperméthrine (insecticide)	0,035
Cyfluthrine (insecticide)	0,05
Carbofuran (insecticide/acaricide)	0,05

La méthode d'essai en laboratoire conçue pour évaluer cette toxicité aiguë par voie orale des pesticides pour les abeilles domestiques ouvrières adultes et reconnue internationalement est décrite par l'OECD (1998a).

A remarquer que Charpentier et al. (2014) indiquent une valeur de toxicité aiguë par voie orale de 0,044 µg/larve pour le **thymol** (médicament vétérinaire).

De plus, Mullin et al. (2010) indiquent des valeurs de DL₅₀ 48 h après l'exposition (toxicité aiguë) de 0,022, 0,028 et de 0,05 µg/abeille respectivement pour les insecticides **cyfluthrine**, **imidaclopride** et **deltaméthrine**, et que la banque de données PPDB/VSDB indique une valeur de toxicité de 0,027 µg/abeille pour l'insecticide/acaricide **mévinphos**, sans en préciser le mode d'exposition.

Outre les substances actives retenues ci-dessus sur base des critères de toxicité (par contact et par voie orale), le Comité scientifique est d'avis qu'il est pertinent de retenir également les substances actives susceptibles d'être présentes fréquemment et/ou en concentrations élevées dans la cire d'abeille, et dès lors de présenter un risque pour la santé des abeilles.

Par conséquent, les substances actives les plus lipophiles parmi les résidus déjà détectés dans la cire selon différentes références scientifiques sont également retenues. En effet, ces substances actives s'accumulent dans la cire, vu le caractère lipidique de celle-ci. Les substances actives hydrophiles sont présentes dans la cire peu fréquemment et en très faibles quantités, et ne sont donc pas prises en considération lors de l'estimation du transfert des résidus de la cire vers l'abeille et la gelée royale ou le pain d'abeille. Sur base des valeurs de coefficient de partage 'octanol/eau' à pH 7 et à 20 °C (Log P) mentionnées au tableau repris à l'annexe 2 (valeurs issues de la PPDB/VSDB), les 5 substances actives les plus lipophiles par ordre décroissant sont le **tau-fluvalinate**, le **DDT**, le **DDE**, le **pyridaben** et l'**acrinathrine** (cf. tableau 9).

Tableau 9. Les substances actives les plus lipophiles (= présentant les valeurs de coefficient de partage 'octanol/eau' (Log P) les plus élevées) parmi celles détectées dans la cire d'abeille.

Substance active	Log P
tau-Fluvalinate (insecticide/acaricide)	7,02
DDT (insecticide)	6,91
DDE (métabolite du DDT)	6,51
Pyridaben (insecticide/acaricide)	6,37
Acrinathrine (insecticide/acaricide)	6,30

Par conséquent également, parmi les résidus déjà détectés dans la cire selon différentes références scientifiques, les substances actives (pouvant être) utilisées comme médicaments vétérinaires (varroacides) en apiculture (cf. tableau 5) sont aussi retenues. En effet, suite à leur utilisation, ces substances actives sont détectées plus fréquemment et en quantités plus importantes dans la cire par rapport aux autres substances actives. Les substances actives retenues selon ce critère sont les suivantes :

- **Amitraze**
- **Coumaphos**
- **Fluméthrine**
- **tau-Fluvalinate**
- **Thymol**

En ce qui concerne les résidus de pesticides et de médicaments vétérinaires, les 18 substances actives citées ci-dessus sont donc retenues pour la suite de l'avis.

En ce qui concerne les métaux lourds, il y a insuffisamment de données disponibles en ce qui concerne leur influence sur la qualité des rayons de cire ainsi que sur le développement et les caractéristiques biologiques du couvain (Tlak Gajger et al., 2016). La contamination des rayons de cire par des métaux lourds affecte probablement le développement du couvain, la vitalité post-émergence, la productivité de la reine ou la longévité des abeilles adultes (Tlak Gajger et al., 2016). Selon Di et al. (2016), la contamination par du cadmium (Cd), du cuivre (Cu) ou du plomb (Pb) de la nourriture ingérée par les larves entraîne en effet une augmentation de la mortalité de ces dernières en fonction de la dose et diminue leur indice de croissance relative. Chez l'abeille adulte, une exposition par voie orale au Cu, Pb et Cd conduit à des changements significatifs de l'expression des gènes, des niveaux d'activité enzymatique et du statut rédox, et ces effets varient en fonction du métal lourd et de la dose (Nikolić et al., 2016). Polykretis et al. (2016) ont observé une diminution de l'immunocompétence des abeilles adultes exposées au Cd via leur alimentation. Quant au sélénium (Se), une exposition des abeilles adultes via leur alimentation entraîne des déficiences significatives au niveau de l'apprentissage et de la mémoire (Burden et al., 2016) et pourrait dès lors entraîner une diminution de la population d'abeilles au niveau de la ruche (Hladun et al., 2012).

4.3. Une limite d'action par rapport à la présence éventuelle de ces substances dans la cire peut-elle être proposée afin de préserver la santé des abeilles ?

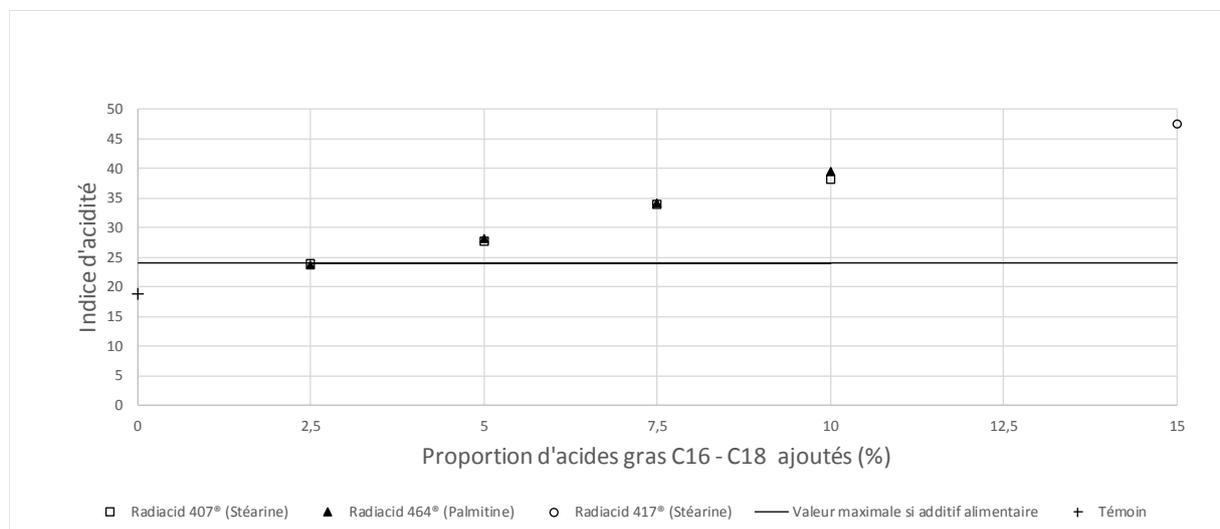
4.3.1. Adultération

Le Comité scientifique rappelle que l'ajout de stéarine et/ou de palmitine à la cire d'abeille constitue une fraude et que cette pratique est interdite. En outre, comme précisé au point 4.2., l'ajout d'acides gras à la cire d'abeille influence négativement le développement du couvain, et donc la santé générale de la colonie d'abeilles. Afin de protéger la santé des abeilles, le Comité scientifique recommande dès lors l'application des limites d'action suivantes au niveau de la cire refondue (= pain de cire) destinée à être utilisée en apiculture :

1. l'indice d'acidité doit être supérieur ou égal à 17 et inférieur ou égal à 24, et

2. l'indice d'ester (= indice de saponification - indice d'acidité) doit être supérieur ou égal à 63 et inférieur ou égal à 87.

L'application de ces limites d'action, en particulier celle correspondant à un indice d'acidité maximal de 24, permettra en effet d'écarter de l'apiculture les cires présentant une teneur supérieure ou égale à 2,5 % d'acides gras ajoutés (cf. figure 5), si les résultats obtenus pour les stéarines Radiacid 407® et Radiacid 417® et pour la palmitine Radiacid 464® se confirment pour d'autres mélanges d'acides gras. Cette teneur semble, dans l'état actuel des connaissances, ne pas avoir d'impact significatif sur la mortalité du couvain d'abeilles ouvrières par rapport au témoin, à savoir la cire d'abeille sans ajout d'acides gras (cf. figure 3). Autrement dit, les cires d'abeille pouvant être utilisées en apiculture doivent convenir à la consommation humaine, et donc être classées dans la catégorie 3 des sous-produits animaux (cf. également point 3.2.). Par conséquent, elles doivent respecter les spécifications reprises au Règlement (UE) n°231/2012, notamment présenter un indice d'acidité compris entre 17 et 24, dans l'attente de la validation de méthodes d'analyse permettant de distinguer les acides gras ajoutés de ceux naturellement présents dans la cire d'abeille.



Légende : les caractéristiques physico-chimiques des stéarines Radiacid 407® et Radiacid 417® et de la palmitine Radiacid 464® sont reprises au tableau 3 et le trait horizontal représente la valeur maximale autorisée pour la cire d'abeille en tant qu'additif alimentaire (norme fixée par le Règlement (UE) n°231/2012).

Figure 5. Evolution de l'indice d'acidité lors d'un ajout de stéarine (Radiacid 407® ou 417®) ou de palmitine (Radiacid 464®) dans la cire d'abeille (Reybroeck, 2017 et 2018a).

4.3.2. Contamination

Dans l'état actuel des connaissances (cf. également le point 4.2.), il est difficile de proposer une limite d'action pour les auxiliaires technologiques tels que les détergents et les acides organiques utilisés pour la fabrication des cires gaufrées. Toutefois, le producteur de cire gaufrée veillera à :

- utiliser les auxiliaires technologiques les moins toxiques pour les abeilles, lorsque l'information est disponible,
- utiliser les auxiliaires technologiques conformément aux directives du fabricant, et
- éliminer au maximum les résidus des auxiliaires technologiques de la cire gaufrée produite à l'aide d'un procédé dont l'efficacité a été démontrée.

En ce qui concerne les métaux lourds, le Règlement (UE) n°231/2012 impose le respect de normes par rapport à l'arsenic, au plomb et au mercure dans la cire d'abeille utilisée comme additif alimentaire (cf. point 3.2. ci-avant). Etant donné le peu de données disponibles quant à l'influence de ces

substances sur la santé des (larves d') abeilles, le Comité scientifique recommande que les normes de la législation alimentaire soient également respectées pour la cire utilisée en apiculture.

L'accumulation des résidus de produits phytopharmaceutiques, de biocides et de médicaments vétérinaires dans la cire d'abeille est directement liée à leur caractère lipophile (Thompson, 2012). A partir de la cire d'abeille, le Comité scientifique fait l'hypothèse qu'une partie de ces résidus migre vers la larve d'abeille ou vers les réserves alimentaires stockées dans les alvéoles. Bien que la larve soit composée de $\pm 80\%$ d'eau, il est supposé que ce sont les molécules les plus lipophiles dans la cire qui migrent vers la larve. En effet, malgré le fait que la cuticule pourrait protéger la larve contre le transfert d'une partie de la contamination présente dans la cire, la larve est néanmoins recouverte de cire cuticulaire (composée essentiellement de lipides (cf. point 3.1.1.)), ce qui devrait favoriser le transfert des molécules les plus lipophiles. Afin d'estimer ce transfert, l'ensemble des valeurs des coefficients de partition octanol/eau des composés repris dans le tableau à l'annexe 2 ont été prises en compte. Ensuite, ces coefficients ont été standardisés sur une échelle allant de 0, correspondant au coefficient le plus faible (= substance la plus hydrophile) à 100, correspondant au coefficient le plus élevé (= substance la plus lipophile). Le taux de transfert de chaque substance correspond dès lors au coefficient standardisé de partition entre l'octanol et l'eau exprimé en pourcentage. De manière similaire à la migration d'un résidu de la cire vers la larve d'abeille, le même taux de transfert est utilisé afin de caractériser la migration du résidu considéré de la cire vers les réserves alimentaires que sont la gelée royale et le pain d'abeille (cf. également ci-dessous).

Afin de déterminer les limites d'action relatives à la teneur en résidus contenus dans la cire refondue (= pain de cire) visant à préserver la santé des abeilles, le Comité scientifique propose les 3 scénarios d'exposition suivants :

1. **Scénario n°1** = exposition des larves suite à leur contact étroit avec la cire constituant les alvéoles dans lesquelles elles se développent.
2. **Scénario n°2** = exposition des larves suite à la consommation de gelée royale et de pain d'abeille ayant été contaminés à partir de la cire lors de leur stockage dans les alvéoles de cire.
3. **Scénario n°3** = exposition des abeilles adultes suite au malaxage de la cire lors de la confection des alvéoles sur base d'un scénario du pire des cas qui correspondrait à une consommation (= ingestion) de cire.

Hormis les scénarios ci-dessus, le Comité scientifique estime que les abeilles ne sont pas ou peu exposées, directement ou indirectement, aux résidus dans la cire. Pour cette raison, il n'a considéré que ces 3 scénarios d'exposition dans cet avis.

Afin d'estimer l'exposition des abeilles selon ces 3 scénarios, différents paramètres ont dû être estimés.

Pour le **scénario n°1 (contact)**, un stade larvaire de 6 jours est pris en compte. Winston (1987) précise qu'en moyenne cette durée est de 5,5 jours mais qu'elle peut varier de 4 à 11 jours. Au cours de ce laps de temps, les contaminants diffusent progressivement de la cire vers la larve. Il est dès lors supposé qu'un sixième de la quantité de chacun des contaminants considérés migre quotidiennement de la cire vers la larve. Il est également supposé que la larve, étant donné sa petite taille, n'est en contact qu'avec le fond de l'alvéole (= source d'exposition). Dès lors, on considère qu'il y a uniquement contact avec la cire gaufrée placée sur le cadre avant la construction des alvéoles par les abeilles. Sachant qu'une feuille de cire gaufrée fixée sur un cadre de corps d'une ruche du type Simplex mesure 34,6 cm sur 19,9 cm (= 6,88 dm²), représente 65 g de cire à l'origine et permet la construction de 5.504 alvéoles, soit 800 alvéoles par dm², cela représente 11,8 mg (0,0118 g) de cire par alvéole.

Pour le **scénario n°2 (consommation de gelée royale et de pain d'abeille)**, 124 mg de nourriture, dont 3,6 mg de pollen et 120 mg de nectar (correspondant à 40 mg de miel, si on considère des teneurs en eau de 60 % et 20 % respectivement pour le nectar et le miel), sont consommés par la larve au cours

de son 5^e jour de développement selon USEPA/HCPMRA/CDPR (2014). L'extrapolation de ces valeurs au 6^e jour de développement conduit à une consommation de 5,4 mg de pollen et 180 mg de nectar. Devillers (2014) estime que 12 mg, dont 6 mg (50 %) de pollen et 6 mg (50 %) de miel, sont consommés quotidiennement par la larve. En ce qui concerne la gelée royale, Devillers (2014) estime que 3 mg sont consommés quotidiennement par la larve. Selon USEPA/HCPMRA/CDPR (2014), 1,9, 9,4 et 19 mg de gelée royale sont consommés respectivement lors des 3 premiers jours de développement de la larve. Le pollen est constitué de $\pm 5,0$ % de lipides (Bogdanov, 2017 ; Komosinska-Vassev et al., 2015) et la gelée royale de 3 à 8 % (Bogdanov, 2017). Le miel n'en contient qu'une fraction négligeable. Dans le cadre de ce scénario, le Comité scientifique considère qu'un transfert de la cire, contenant majoritairement des substances actives lipophiles, vers les matrices ci-dessus ne se fait que vers la partie lipidique de celles-ci. Par conséquent, le transfert vers le miel est considéré comme nul. Cette matrice n'est dès lors pas retenue dans la suite de l'avis. Pour les calculs, une concentration de 5 % en lipides est prise en considération aussi bien pour le pollen que pour la gelée royale. De plus, étant donné que la larve consomme soit de la gelée royale, soit du pollen, seule la consommation quotidienne maximale mentionnée ci-dessus, à savoir 19 mg de gelée royale, est prise en compte. Cette dernière correspond à l'ingestion quotidienne de 0,95 mg (= 19 mg x 5 %) de lipides. Rappelons également que le pollen ramené à la ruche par les abeilles est potentiellement déjà contaminé par des résidus de pesticides, voire de médicaments vétérinaires, et que la gelée royale l'est peut-être également déjà lorsqu'elle est produite au sein de la colonie. La contamination initiale de ces deux matrices n'est pas prise en compte dans le présent avis. Contrairement au scénario n°1, l'hypothèse selon laquelle la masse totale d'une alvéole bâtie désoperculée, à savoir 21,5 mg (0,0215 g) (de Graaf D. et Reybroeck W., communications personnelles ; El Agrebi et al., 2018a), correspond à la source d'exposition, est retenue pour le scénario n°2. Et ce, en raison du fait qu'on considère que l'alvéole est remplie de ressources alimentaires et que la surface de contact est dès lors maximale, au contraire de celle pour la larve. Par contre, similairement au scénario n°1, une durée de stade larvaire égale à 6 jours est également prise en compte pour le scénario n°2. En effet, au cours de ce laps de temps, les contaminants diffusent aussi progressivement de la cire vers les lipides contenus dans la gelée royale en contact avec cette cire. Ici aussi, l'hypothèse selon laquelle un sixième de la quantité de chacun des contaminants considérés migre quotidiennement de la cire vers la gelée royale est dès lors faite.

Pour le scénario n°3 (malaxage), le Comité scientifique considère qu'une colonie compte ± 50.000 abeilles, que 50 % d'entre elles (soit 25.000) sont des ouvrières butineuses et que 20 % d'entre elles (soit 5.000) sont de type 'cirières', c'est-à-dire productrices de cire. Ces dernières bâtissent 3 feuilles de cire gaufrée de 34,6 cm sur 19,9 cm fixées sur des cadres de corps d'une ruche du type Simplex en 3 jours par étirement en y incorporant de la cire nouvellement synthétisée. Bâties, ces 3 feuilles correspondent à 383 g de cire (El Agrebi et al., 2018a), soit 128 g de cire par feuille (contre 65 g pour une feuille de cire non bâtie). Il est également supposé que les abeilles malaxent uniquement la cire nouvellement synthétisée, soit 63 g (= 128 - 65) de cire par feuille ou 189 g de cire pour les 3 feuilles. Cela correspond à un malaxage de 12,6 mg (0,0126 g) de cire par abeille et par jour (El Agrebi et al., 2018a).

De plus, il y a très peu de données de toxicité des résidus susmentionnés pour les larves d'abeille. La survie larvaire semble être réduite suite à une exposition chronique par voie orale au fluvalinate, au coumaphos, au chlorothalonil, au chlorpyrifos, à l'amtiraze, au thymol et au thiaméthoxame (Charpentier et al., 2014 ; Dai et al., 2018a et b ; Tavares et al., 2017 ; Zhu et al., 2014). Lorsque des données de toxicité aiguë (DL_{50}) spécifiques aux larves sont disponibles (cf. annexe 2), celles-ci sont prises en compte dans les calculs ci-dessous relatifs aux scénarios n°1 et n°2. Dans le cas contraire, le Comité scientifique s'est basé, en première approche, sur les valeurs de toxicité aiguë déterminées sur l'abeille adulte les plus faibles mentionnées au tableau de l'annexe 2.

En outre, bien que certaines interactions entre substances actives aient été démontrées ces dernières années (cf. point 3.7.), le Comité scientifique a considéré séparément les substances retenues au point 4.2. lors de la détermination des limites d'action ci-après.

Enfin, dans le but de compenser les incertitudes liées aux hypothèses susmentionnées (non prise en compte de la contamination initiale du pollen et de la gelée royale, données parcellaires de DL₅₀ pour les larves et non prise en compte des éventuelles interactions entre substances actives), le Comité scientifique fait également l'hypothèse que l'exposition des abeilles aux résidus qui migrent à partir de la cire ne peut pas dépasser 10 % des valeurs de DL₅₀ 48 h après l'exposition (toxicité aiguë) (Traynor et al., 2016). Cette même hypothèse avait été considérée dans le cadre de l'Avis 08-2013 « Evaluation du document 'Scénario en cas d'intoxication aiguë d'abeilles communes par des pesticides' » (SciCom, 2013).

Sur base des hypothèses formulées ci-avant, la concentration maximale d'un résidu dans la cire d'abeille refondue à ne pas dépasser (= limite d'action) sous peine d'influencer négativement la santé des larves d'abeilles suite à leur contact étroit avec la cire (= **scénario n°1**) est dès lors proportionnelle au dixième de la valeur de DL₅₀ par contact (48 h après l'exposition) du résidu considéré et à la durée d'exposition (= 6 jours), et inversement proportionnelle au taux de transfert 'cire/larve' et à la source d'exposition (= 11,8 mg de cire). La détermination de la limite d'action repose dès lors sur la formule suivante :

$$\text{Limite action1} = \left(\frac{\left(\left(\frac{\left(\text{DL50 contact} \times \left(\frac{10}{100} \right) \right)}{\text{Taux transfert}} \right) \times \text{Durée exposition} \right)}{\text{Source exposition}} \right) \times 1000$$

Avec « Source exposition » = quantité de cire dont est constitué le fond de l'alvéole avec lequel la larve est en contact.

Sur base des hypothèses formulées ci-avant, la concentration maximale d'un résidu dans la cire d'abeille refondue à ne pas dépasser (= limite d'action) sous peine d'influencer négativement la santé des larves d'abeilles suite à la consommation par celles-ci de gelée royale et de pain d'abeille ayant été contaminés à partir de la cire (= **scénario n°2**) est dès lors proportionnelle au dixième de la valeur de DL₅₀ par voie orale (48 h après l'exposition) du résidu considéré et à la durée d'exposition (= 6 jours), et inversement proportionnelle à l'ingestion quotidienne de lipides via la consommation de gelée royale (= 0,95 mg), au taux de transfert 'cire/gelée royale' et à la source d'exposition (= 21,5 mg de cire). La détermination de la limite d'action repose dès lors sur la formule suivante :

$$\text{Limite action2} = \left(\frac{\left(\frac{\left(\text{DL50 orale} \times \left(\frac{10}{100} \right) \right)}{\text{Ingestion lipides via consommation gelée royale}} \right)}{\text{Taux transfert}} \times \text{Durée exposition} \right) \times 1000$$

$$\left(\frac{\text{Source exposition}}{\text{Source exposition}} \right) \times 1000$$

Avec « Source exposition » = quantité de cire dont est constituée l'entière d'une alvéole et avec laquelle les ressources alimentaires qui y sont stockées sont en contact.

Sur base des hypothèses formulées ci-avant, la concentration maximale d'un résidu dans la cire d'abeille refondue à ne pas dépasser (= limite d'action) sous peine d'influencer négativement la santé des abeilles adultes suite au malaxage de la cire (= **scénario n°3**) est dès lors proportionnelle au dixième de la valeur de DL₅₀ par voie orale (48 h après l'exposition) du résidu considéré et inversement proportionnelle à l'« ingestion » quotidienne de cire (= 12,6 mg). La détermination de la limite d'action repose dès lors sur la formule suivante :

$$\text{Limite action3} = \left(\frac{\left(\text{DL50 orale} \times \left(\frac{10}{100} \right) \right)}{\text{"Ingestion" cire}} \right) \times 1000$$

Avec « « Ingestion » cire » = scénario du pire des cas qui assimile le malaxage de la cire par les abeilles lors de la confection des alvéoles à l'ingestion de cette dernière.

Les limites d'action déterminées selon les 3 scénarios envisagés ci-avant pour les 18 substances actives retenues au point 4.2. figurent respectivement aux tableaux 10, 11 et 12.

Tableau 10. Limites d'action dans la cire d'abeille refondue déterminées pour les 18 substances actives retenues au point 4.2. selon le scénario n°1 (exposition des larves suite à leur contact étroit avec la cire).

Substance active (s.a.)	10 % DL ₅₀ par contact (µg abeille ⁻¹ ou µg larve ⁻¹)	Taux de transfert (%)	Durée d'exposition (j)	Source d'exposition (mg de cire)	Limite d'action (mg s.a./kg de cire)	Référence pour les valeurs de DL ₅₀	Remarque
Acrinathrine	0,0084	92,95	6	11,8	4,595	PPDB/VSDB	DL ₅₀ pour les abeilles adultes
Amitraze	1,483	85,13	6	11,8	885,813	Dai et al. (2017)	DL ₅₀ par voie orale
Carbofuran	0,0036	48,92	6	11,8	3,742	PPDB/VSDB	DL ₅₀ pour les abeilles adultes
Chlorpyriphos (-éthyl)	0,046	77,30	6	11,8	30,259	Dai et al. (2017)	DL ₅₀ par voie orale
Coumaphos	0,27	69,08	6	11,8	198,737	Dai et al. (2017)	DL ₅₀ par voie orale
Cyfluthrine	0,0001	90,02	6	11,8	0,056	PPDB/VSDB	DL ₅₀ pour les abeilles adultes
Cyperméthrine	0,002	83,17	6	11,8	1,223	PPDB/VSDB	DL ₅₀ pour les abeilles adultes
DDE	0,5	95,01	6	11,8	267,591	PPDB/VSDB	DL ₅₀ par voie orale du DDT pour les abeilles adultes
DDT	0,5	98,92	6	11,8	257,003	PPDB/VSDB	DL ₅₀ par voie orale pour les abeilles adultes
Deltaméthrine	0,00015	76,32	6	11,8	0,100	PPDB/VSDB	DL ₅₀ pour les abeilles adultes
Fluméthrine	0,0178	91,98	6	11,8	9,840	Oruc et al. (2012)	DL ₅₀ par voie orale pour les abeilles adultes
Imidaclopride	0,417	36,89	6	11,8	574,797	Dai et al. (2017)	DL ₅₀ par voie orale
Lindane (γ-HCH)	0,023	65,56	6	11,8	17,839	PPDB/VSDB	DL ₅₀ pour les abeilles adultes

Mévinphos	0,0027	32,55	6	11,8	4,217	PPDB/VSDB	Sans précision de la voie d'exposition mais pour les abeilles adultes
Pyridaben	0,0024	93,64	6	11,8	1,303	PPDB/VSDB	DL ₅₀ pour les abeilles adultes
tau-Fluvalinate	0,083	100,00	6	11,8	42,203	Dai et al. (2017)	DL ₅₀ par voie orale du fluvalinate
Thiaméthoxame	0,0024	30,04	6	11,8	4,062	PPDB/VSDB	DL ₅₀ pour les abeilles adultes
Thymol	0,0044	70,06	6	11,8	3,193	Charpentier et al. (2014)	DL ₅₀ par voie orale

Tableau 11. Limites d'action dans la cire d'abeille refondue déterminées pour les 18 substances actives retenues au point 4.2. selon le scénario n°2 (exposition des larves suite à la consommation de gelée royale et de pain d'abeille ayant été contaminés à partir de la cire).

Substance active (s.a.)	10 % DL ₅₀ par voie orale (µg abeille ⁻¹ ou µg larve ⁻¹)	Ingestion de lipides via la consommation de gelée royale (mg)	Taux de transfert (%)	Durée d'exposition (j)	Source d'exposition (mg de cire)	Limite d'action (mg s.a./kg de cire)	Référence pour les valeurs de DL ₅₀	Remarque
Acrinathrine	0,0077	0,95	92,95	6	21,5	2,433	PPDB/VSDB	DL ₅₀ pour les abeilles adultes
Amitraze	1,483	0,95	85,13	6	21,5	511,755	Dai et al. (2017)	
Carbofuran	0,005	0,95	48,92	6	21,5	3,002	PPDB/VSDB	DL ₅₀ pour les abeilles adultes
Chlorpyrifos (-éthyl)	0,046	0,95	77,30	6	21,5	17,481	Dai et al. (2017)	
Coumaphos	0,27	0,95	69,08	6	21,5	114,815	Dai et al. (2017)	
Cyfluthrine	0,005	0,95	90,02	6	21,5	1,632	PPDB/VSDB	DL ₅₀ pour les abeilles adultes
Cyperméthrine	0,0035	0,95	83,17	6	21,5	1,236	PPDB/VSDB	DL ₅₀ pour les abeilles adultes
DDE	0,5	0,95	95,01	6	21,5	154,593	PPDB/VSDB	DL ₅₀ du DDT pour les abeilles adultes
DDT	0,5	0,95	98,92	6	21,5	148,477	PPDB/VSDB	DL ₅₀ pour les abeilles adultes
Deltaméthrine	0,0079	0,95	76,32	6	21,5	3,041	PPDB/VSDB	DL ₅₀ pour les abeilles adultes
Fluméthrine	0,0178	0,95	91,98	6	21,5	5,685	Oruc et al. (2012)	DL ₅₀ pour les abeilles adultes
Imidaclopride	0,417	0,95	36,89	6	21,5	332,074	Dai et al. (2017)	
Lindane (γ-HCH)	0,0011	0,95	65,56	6	21,5	0,493	PPDB/VSDB	DL ₅₀ pour les abeilles adultes

Mévinphos	0,0027	0,95	32,55	6	21,5	2,436	PPDB/VSDB	Sans précision de la voie d'exposition mais pour les abeilles adultes
Pyridaben	0,0535	0,95	93,64	6	21,5	16,783	PPDB/VSDB	DL ₅₀ pour les abeilles adultes
tau-Fluvalinate	0,083	0,95	100,00	6	21,5	24,382	Dai et al. (2017)	DL ₅₀ du fluvalinate
Thiaméthoxame	0,0005	0,95	30,04	6	21,5	0,489	PPDB/VSDB	DL ₅₀ pour les abeilles adultes
Thymol	0,0044	0,95	70,06	6	21,5	1,845	Charpentier et al. (2014)	

Tableau 12. Limites d'action dans la cire d'abeille refondue déterminées pour les 18 substances actives retenues au point 4.2. selon le scénario n°3 (exposition des abeilles adultes suite au malaxage de la cire).

Substance active (s.a.)	10 % DL ₅₀ par voie orale (µg abeille ⁻¹)	« Ingestion » de cire (mg)	Limite d'action (mg s.a./kg de cire)	Référence pour les valeurs de DL50	Remarque
Acrinathrine	0,0077	12,6	0,611	PPDB/VSDB	
Amitraze	5	12,6	396,825	PPDB/VSDB	DL ₅₀ par contact
Carbofuran	0,005	12,6	0,397	PPDB/VSDB	
Chlorpyrifos (-éthyl)	0,024	12,6	1,905	Sanchez-Bayo et Goka (2014)	
Coumaphos	0,461	12,6	36,587	Sanchez-Bayo et Goka (2014)	
Cyfluthrine	0,005	12,6	0,397	PPDB/VSDB	
Cyperméthrine	0,0035	12,6	0,278	PPDB/VSDB	
DDE	0,5	12,6	39,683	PPDB/VSDB	DL ₅₀ du DDT
DDT	0,5	12,6	39,683	PPDB/VSDB	
Deltaméthrine	0,0079	12,6	0,627	PPDB/VSDB	
Fluméthrine	0,0178	12,6	1,413	Oruc et al. (2012)	
Imidaclopride	0,00037	12,6	0,029	PPDB/VSDB	
Lindane (γ-HCH)	0,0011	12,6	0,087	PPDB/VSDB	
Mévinphos	0,0027	12,6	0,214	PPDB/VSDB	Sans précision de la voie d'exposition
Pyridaben	0,0535	12,6	4,246	PPDB/VSDB	
tau-Fluvalinate	1,26	12,6	100,000	PPDB/VSDB	
Thiaméthoxame	0,0005	12,6	0,040	PPDB/VSDB	
Thymol	20	12,6	1587,302	PPDB/VSDB	DL ₅₀ par contact

Légende : « Ingestion » correspond au scénario du pire des cas qui assimile le malaxage de la cire par les abeilles lors de la confection des alvéoles à l'ingestion de cette dernière.

Etant donné qu'ils concernent soit la larve, soit l'abeille adulte, et une exposition soit par contact, soit par voie orale, le Comité scientifique estime que les trois scénarios ci-dessus doivent être considérés séparément. Sur base des tableaux 10, 11 et 12, les valeurs les plus faibles sont par conséquent retenues comme concentrations maximales qui ne devraient pas être dépassées dans la cire d'abeille refondue afin de protéger la santé des abeilles. Ces valeurs calculées sont ensuite arrondies selon les règles mathématiques et en se référant aux valeurs mentionnées par l'OECD (2011). En d'autres termes, les limites d'action calculées sont arrondies à 1 chiffre significatif, comme un multiple de l'ordre de grandeur décimal de la valeur calculée, sauf si la valeur calculée se situe entre 12,5 et 17,4 (ou par analogie, dans un autre ordre de grandeur décimal), auquel cas un arrondi à 15 est utilisé (ou, par analogie, dans un autre ordre de grandeur décimal). Les limites d'action proposées ainsi obtenues sont reprises au tableau 13.

Tableau 13. Limites d'action dans la cire d'abeille refondue proposées par le Comité scientifique pour les 18 substances actives retenues au point 4.2.

Substance active (s.a.)	Limite d'action proposée (mg s.a./kg de cire)	Détermination basée sur le scénario n° :
Acrinathrine	0,6	3
Amitraze	400	3
Carbofuran	0,4	3
Chlorpyriphos (-éthyl)	2	3
Coumaphos	40	3
Cyfluthrine	0,06	1
Cyperméthrine	0,3	3
DDE	40	3
DDT	40	3
Deltaméthrine	0,1	1
Fluméthrine	1,5	3
Imidaclopride	0,03	3
Lindane (γ -HCH)	0,09	3
Mévinphos	0,2	3
Pyridaben	1,5	1
tau-Fluvalinate	20	2
Thiaméthoxame	0,04	3
Thymol	2	2

5. Incertitudes

La toxicité de certaines substances chimiques détectées dans la cire d'abeille pour les (larves d') abeilles n'est actuellement pas connue (cf. tableau de l'annexe 2).

Compte tenu de la fréquence et de la multiplicité de l'exposition des abeilles aux substances actives listées ci-avant, les effets directs ou en interaction des fongicides et insecticides, notamment, ne sont pas tous (bien) connus (cf. également ANSES (2015)).

En ce qui concerne les résidus de produits phytopharmaceutiques, de biocides et de médicaments vétérinaires, étant donné que peu de données existent quant à l'impact d'une exposition chronique à des doses sous-létales sur la santé des abeilles, le Comité scientifique s'est par conséquent basé sur les données relatives à leur toxicité aiguë. Pour les médicaments vétérinaires, des informations relatives au stade larvaire sont toutefois disponibles lorsque le traitement est recommandé pour le couvain. De plus, des études de tolérance aux médicaments vétérinaires dans leurs conditions

normales d'utilisation sont exigées pour les abeilles adultes avant la commercialisation de ces produits. Ces données figurent dans les dossiers de demande d'autorisation de mise sur le marché (AMM) des médicaments vétérinaires mais sont, à moins d'être disponibles dans le domaine public, propriété des détenteurs d'AMM et donc confidentielles.

En ce qui concerne les métaux lourds, peu de données sont actuellement disponibles quant à l'influence de ces substances sur la santé des (larves d') abeilles.

Les pourcentages de migration des résidus de la cire vers l'abeille et, de la cire vers le pain d'abeille et la gelée royale ne sont pas connus. Le Comité scientifique a utilisé le coefficient de partition octanol/eau standardisé des résidus pour estimer ces pourcentages de migration.

6. Conclusions

Le Comité scientifique a identifié plusieurs substances pouvant adultérer ou contaminer la cire d'abeille sur base d'une revue de la littérature scientifique.

Le risque pour la santé des abeilles que posent ces substances a ensuite été évalué. En ce qui concerne les résidus de produits phytopharmaceutiques, de biocides et de médicaments vétérinaires, cette évaluation a été réalisée sur base de trois scénarios d'exposition. Le premier scénario correspond à l'exposition des larves suite à leur contact étroit avec la cire constituant les alvéoles dans lesquelles elles se développent. Le second scénario correspond à l'exposition des larves suite à la consommation de gelée royale et de pain d'abeille ayant été contaminés à partir de la cire lors de leur stockage dans les alvéoles de cire. Le troisième scénario correspond à l'exposition des abeilles adultes suite au malaxage de la cire lors de la confection des alvéoles sur base d'un scénario du pire qui correspondrait à une consommation (= ingestion) de cire. Au niveau du second scénario, la contamination initiale du pollen lorsqu'il est ramené à la ruche par les abeilles et de la gelée royale lorsqu'elle est produite au sein de la ruche n'a pas été prise en compte.

Pour les substances les plus à risque pour la santé des abeilles, le Comité scientifique a ensuite proposé une limite d'action dont il recommande l'application aux cires d'abeille refondues mises sur le marché. Celles-ci sont détaillées au point 4.3.

7. Recommandations

7.1. Destinées au secteur apicole

L'analyse des voies potentielles de contamination ou d'adultération de la cire d'abeille (cf. figure 1), invite à distinguer en pratique deux types de cire. D'une part, il y a la cire nouvellement synthétisée par les abeilles (= la cire d'opercule et la cire issue des alvéoles nouvellement confectionnées), qui est peu ou pas contaminée. D'autre part, il y a la cire réutilisée ou recyclée (= après avoir été fondue) qui est potentiellement associée à une contamination historique de la ruche. Dans le cadre du recyclage des cires par les apiculteurs, les bonnes pratiques apicoles recommandent de n'utiliser que la cire issue des cadres de hausse (KonVIB/FAB-BBF, 2009 ; Vergaert, 2017). La cire nouvellement synthétisée issue de ces cadres sera utilisée pour confectionner la cire gaufrée destinée à garnir les cadres de hausse de la ruche, et la cire réutilisée sera utilisée pour confectionner celle destinée à garnir les cadres du corps de la ruche. De plus, il est recommandé d'éliminer les cires des cadres les plus anciens du corps de la ruche, entre $\frac{1}{4}$ et $\frac{1}{3}$ des cadres annuellement (Vergaert, 2017). Le guide de bonnes pratiques apicoles

(KonVIB/FAB-BBF, 2009) devrait détailler encore davantage les bonnes pratiques en matière d'utilisation et de recyclage de la cire par les apiculteurs.

Le guide de bonnes pratiques apicoles (KonVIB/FAB-BBF, 2009) devrait également être adapté de manière à inclure les limites d'action déterminées ci-avant. De plus, ce guide devrait recommander à l'apiculteur de faire analyser la cire gaufrée qu'il achète dans le cas où le producteur de cette cire ne pourrait lui fournir un certificat d'analyse, notamment afin de détecter toute adultération éventuelle par ajout d'acides gras.

En matière de gestion du risque de contamination de la cire d'abeille, des méthodes industrielles existent pour épurer les cires d'abeille des résidus (Ulrich, 2003 ; Gerster, 2015). Cette étape d'épuration devrait être appliquée aux cires avant leur mise sur le marché. Lors de cette étape, les mesures nécessaires doivent être prises pour éviter la contamination croisée (*carry-over*) entre deux lots consécutifs de cire. Une autre mesure de maîtrise de ce risque pourrait être l'utilisation de feuilles de cire synthétique alimentaire « pour abeilles » au niveau de la ruche, en lieu et place de feuilles de cire d'abeille recyclée. L'emploi de cette cire synthétique pourrait être une solution afin d'éviter d'exposer les abeilles aux résidus contenus dans la cire d'abeille. Cependant, l'abeille a une préférence pour la cire naturelle. De plus, l'usage de la cire synthétique entraîne un ralentissement du développement de la colonie et il conduit à l'impossibilité pour l'apiculteur de valoriser la cire comme cire d'abeille, vu qu'un mélange entre la cire synthétique et la cire d'abeille semble inévitable lors du recyclage des cires du rucher. En outre, les effets à long terme de l'utilisation de ce type de cire sur la santé des abeilles ne sont pas connus.

Les producteurs de cire gaufrée devraient également analyser les cires d'abeille qu'ils utilisent (y incluses celles qu'ils importent dans l'UE) afin de détecter toute adultération éventuelle de celles-ci, et pas uniquement par rapport aux résidus de pesticides et de médicaments vétérinaires.

En ce qui concerne les auxiliaires technologiques tels que les détergents et les acides organiques utilisés pour la fabrication des cires gaufrées, des mesures doivent être prises par le producteur pour en limiter au maximum les résidus dans la cire gaufrée (ex. : rincer les feuilles de cire gaufrée nouvellement produites).

7.2. Destinées aux autorités

Les limites d'action déterminées ci-avant devraient être validées par la réalisation d'essais de toxicité.

Le Comité scientifique recommande l'établissement de normes en matière de contamination et d'adultération des cires d'abeilles au niveau européen.

Le Comité scientifique recommande également le développement de méthodes d'analyse de la cire d'abeille qui permettraient de déceler spécifiquement les substances qui y sont ajoutées illégalement, telles que la stéarine et la paraffine, et de les distinguer des composants naturels. Ces méthodes devraient être mises au point, validées et harmonisées afin de pouvoir servir de référence lors des contrôles officiels. De manière similaire, les méthodes d'analyse des résidus de pesticides et de médicaments vétérinaires dans la cire devraient être standardisées. En effet, actuellement, différentes méthodes existent et se basent sur différents modes d'extraction, ce qui peut conduire à des concentrations mesurées nettement différentes (AFSCA, données non publiées (cf. dossier DirRisk 2014-107)).

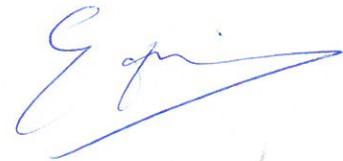
La méthode d'analyse du point de fusion comme méthode de détection des cires adultérées devrait aussi être investiguée davantage, notamment pour les faibles teneurs en acides gras ajoutés.

La migration des résidus de pesticides et de médicaments vétérinaires de la cire constituant les rayons d'une ruche vers les larves d'abeilles et, de la cire vers le pain d'abeille et la gelée royale devrait être davantage étudiée, tout comme le recommande Benuszak et al. (2017).

Pour les agents chimiques, le Comité scientifique recommande de poursuivre des études sur les effets directs ou en interaction des fongicides et insecticides, compte tenu de la fréquence et de la multiplicité de l'exposition des abeilles à ces substances, tout comme le recommande l'ANSES (2015).

En ce qui concerne les résidus de produits phytopharmaceutiques et de biocides, l'impact d'une exposition chronique à des doses sous-létales sur la santé des abeilles devrait être davantage étudié.

Pour le Comité scientifique,
Le Président,



Prof. Dr. E. Thiry
Bruxelles, le 23/11/2018

Références

- Aliano N.P., Ellis M.D., Siegfried B.D., 2006. Acute contact toxicity of oxalic acid to *Varroa destructor* (Acari: *Varroidae*) and their *Apis mellifera* (Hymenoptera: *Apidae*) hosts in laboratory bioassays. *J Econ Entomol.* 99(5):1579-82.
- Anonymous, 2011. Listado de productos aprobados para su utilización en apicultura. Abril 2011. Dirección Nacional de Agroquímicos, Productos Veterinarios y Alimentos. Dirección de Productos Farmacológicos y Veterinarios. SENASA, Argentina.
- ANSES, 2015. Avis de l'Agence nationale de sécurité sanitaire de l'alimentation, de l'environnement et du travail relatif aux co-expositions des abeilles aux facteurs de stress. Saisine n° 2012-SA-0176.
- Arias M.C., Sheppard W.S., 2005. Phylogenetic relationships of honey bees (Hymenoptera:Apinae:Apini) inferred from nuclear and mitochondrial DNA sequence data. *Mol Phylogenet Evol.* 37(1):25-35.
- Arias M.C., Sheppard W.S., 2006. Corrigendum to "Phylogenetic relationships of honey bees (Hymenoptera:Apinae:Apini) inferred from nuclear and mitochondrial DNA sequence data" [Mol. Phylogenet. Evol. 37 (2005) 25–35]. *Mol Phylogenet Evol.* 40(1):315.
- Becker R., 2016. Acute Toxicity Study on the Impact of Chlorpyrifos and Propiconazole in *Apis Mellifera*. Environmental Studies Undergraduate Student Theses. 187.
- Benuszak J., Laurent M., Chauzat M.P., 2017. The exposure of honey bees (*Apis mellifera*; Hymenoptera: *Apidae*) to pesticides: Room for improvement in research. *Sci Total Environ.* 587-588:423-438.
- Bernal J.L., Jiménez J.J., del Nozal M.J., Toribio L., Martín M.T., 2005. Physico-chemical parameters for the characterization of pure beeswax and detection of adulterations. *Eur. J. Lipid Sci. Technol.* 107:158-166.
- Berry J.A., Hood W.M., Pietravalle S., Delaplane K.S., 2013. Field-level sublethal effects of approved bee hive chemicals on Honey Bees (*Apis mellifera* L). *PLoS ONE.* 8(10):e76536.
- Bleneau W., Rademacher E., Baumann A., 2011. Plant essential oils and formamidines as insecticides/acaricides: what are the molecular targets? *Apidologie.* 43(3):334–347.
- Blomquist G.J., Chu A.J., Remaley S., 1980. Biosynthesis of wax in the honeybee, *Apis mellifera* L. *Insect Biochemistry.* 10:313-321.
- Blomquist G.J., Roubik D.W. en Buchmann S.L., 1985. Wax chemistry of two stingless bees of the *Trigonisca* group (Apidae: *Meliponinae*). *Comparative Biochemistry and Physiology.* 82B(1):137-142.
- Bogdanov S., 2006. Contaminants of bee products. *Apidologie.* 37(1):1-18.
- Bogdanov S., 2017. Royal Jelly, Bee Brood: Composition, Health, Medicine: A Review. *Bee Product Science.*
- Bonvehí S.J., Bermejo F.J., 2012. Detection of adulterated commercial Spanish beeswax. *Food Chemistry.* 132:642-648.
- Bounias M., Morgan M.R.J., Joliet C., 1982. Action du chloramphénicol sur l'évolution du spectre protéique de l'hémolymphe d'abeilles nourries sur sirops de saccharose et de tréhalose. *Apidologie.* 13(2):115-126.
- Buchwald R., Breed M.D., Greenberg A.R., Otis G., 2006. Interspecific variation in beeswax as a biological construction material. *Journal of Experimental Biology.* 209:3984-3989.
- Burley L.M., Fell R.D., Saacke R.G., 2008. Survival of honey bee (Hymenoptera: *Apidae*) spermatozoa incubated at room temperature from drones exposed to miticides. *J Econ Entomol.* 101(4):1081-7.
- Burden C.M., Elmore C., Hladun K.R., Trumble J.T., Smith B.H., 2016. Acute exposure to selenium disrupts associative conditioning and long-term memory recall in honey bees (*Apis mellifera*). *Ecotoxicol Environ Saf.* 127:71-9.
- Calatayud-Vernich P., Calatayud F., Simó E., Picó E., 2017. Occurrence of pesticide residues in Spanish beeswax. *Science of the Total Environment.* 605-606:745-754.
- Campbell D.J., Le Roy L.P., 1938. Process of bleaching beeswax. US Patent 2108282 A.

- Carrier D.R., Deban S.M., Otterstrom J., 2002. The face that sank the Essex: potential function of the spermaceti organ in aggression. *Journal of Experimental Biology*. 205(12):1755-1763.
- CBIPvet. Centre Belge d'Information Pharmacothérapeutique. <https://www.vetcompendium.be>
- Charpentier G., Vidau C., Ferdy J.B., Tabart J., Vetillard A., 2014. Lethal and sub-lethal effects of thymol on honeybee (*Apis mellifera*) larvae reared in vitro. *Pest Manag Sci*. 70(1):140-7.
- Cizelj I., Glavan G., Bozic J., Oven I., Mrak V., Narat M., 2016. Prochloraz and coumaphos induce different gene expression patterns in three developmental stages of the Carniolan honey bee (*Apis mellifera carnica* Pollmann). *Pestic Biochem Physiol*. 128:68-75.
- Coggs hall W.L., Morse R.A., 1984. *Beeswax: Production, Harvesting, Processing and Products*. Wicwas Press. Second printing: 1995.
- Collins A., Pettis J., Wilbanks R., Feldlaufer M., 2004. Performance of honey bee (*Apis mellifera*) queens reared in beeswax cells impregnated with coumaphos. *Journal of Apicultural Research*. 43(3):128-134.
- Connolly C.N., 2017. Nerve agents in honey. *Science*. 358(6359):38-39.
- Dai P., Jack C.J., Mortensen A.N., Ellis J.D., 2017. Acute toxicity of five pesticides to *Apis mellifera* larvae reared in vitro. *Pest Manag Sci*. 73(11):2282-2286.
- Dai P., Jack C.J., Mortensen A.N., Bustamante T.A., Ellis J.D., 2018a. Chronic toxicity of amitraz, coumaphos and fluvalinate to *Apis mellifera* L. larvae reared in vitro. *Sci Rep*. 8(1):5635.
- Dai P., Jack C.J., Mortensen A.N., Bustamante T.A., Bloomquist J.R., Ellis J.D., 2018b. Chronic toxicity of clothianidin, imidacloprid, chlorpyrifos, and dimethoate to *Apis mellifera* L. larvae reared in vitro. *Pest Manag Sci*. 2018 Jun 21. [accepted article]
- Daniele G., Giroud B., Jabot C., Vulliet E., 2018. 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. *Environ. Sci. Pollut. Res. Int*. 25(7):6145-6153.
- Devillers J., 2014. *In Silico Bees*. CRC Press.
- Di N., Hladun K.R., Zhang K., Liu T.X., Trumble J.T., 2016. Laboratory bioassays on the impact of cadmium, copper and lead on the development and survival of honeybee (*Apis mellifera* L.) larvae and foragers. *Chemosphere*. 152:530-8.
- EFSA, 2007. Beeswax (E 901) as a glazing agent and as carrier for flavours. Scientific opinion of the Panel on food additives, flavourings, processing aids and materials in contact with food (AFC). *The EFSA Journal*. 615:1-28.
- El Agrebi N., Wilmart O., Urbain B., Danneels E.L., de Graaf D.C., Saegerman C., 2018a. Flumethrin residues in beeswax: a honeybee health and/or food safety issue? *Submitted for publication in Journal of Agricultural and Food Chemistry*.
- El Agrebi N., Wilmart O., de Graaf D.C., Saegerman C., 2018b. Assessment of residue level of Glyphosate and its primary metabolite AMPA in beebread, wax and honey. *To be submitted for publication*.
- El Agrebi N., Wilmart O., de Graaf D.C., Saegerman C., 2018c. Pesticide residues in trade and Belgian bees wax: exposure assessment to honeybees. *To be submitted for publication*.
- Enan E., 2001. Insecticidal activity of essential oils: octopaminergic sites of action. *Comparative Biochemistry and Physiology Part C: Toxicology & Pharmacology*. 130(3):325-337.
- Fahrenheit L., Lamprecht I., Schricker B., 1989. Thermal investigation of a honeybee colony: thermoregulation of the hive during summer and winter and heat production of members of the different bee castes. *J. Comp. Physiol. B* 159:551-560.
- FAO, 1996. Value-added products from beekeeping. R. Krell. FAO agricultural services bulletin n°124. Food and Agriculture Organization of the United Nations: Rome. ISBN 92-5-103819-8. Cf.: <http://www.fao.org/docrep/w0076e/w0076e00.htm>.
- Farrar C.L., 1960. Caution In The Use of Chemicals, Drugs, and Antibiotics. *American Bee Journal*. 100(5):192-193.
- Faurot-Bouchet E., Michel G., 1964. Composition of insect waxes. I. Waxes of exotic Coccidae: *Gascardia madagascariensis*, *Coccus ceriferus* and *Tachardia lacca*. *Journal of the American Oil Chemists' Society*. 41:418-421.

- Feldlaufer M., Pettis J.S., Kochansky J.P., Stiles G., 2001. Lincomycin hydrochloride for the control of American foulbrood disease of honey bees. *Apidologie*. 32(6):547-554.
- Flores J.M., Gutierrez I., Puerta F., 2004. Oxytetracycline as a predisposing condition for chalkbrood in honeybee. *Veterinary Microbiology*. 103(3-4):195-199.
- Formicki G., Greń A., Stawarz R., Zyśk B., Gał A., 2013. Metal content in honey, propolis, wax, and bee pollen and implications for metal pollution monitoring. *Pol. J. Environ. Stud.* 22(1):99-106.
- Frazini L., 2012. A scientific note on the evidence for the production and use of wax by a captive female *Bombus sylvestris*. *Insectes Sociaux*. 59:443-444.
- Gerster H., 2015. *Verfahren und Vorrichtung zum Aufreinigen von Bienenwachs*. Europäische patentanmeldung n°EP 2 824 168 A1.
- Glavan G., Bozic J., 2013. The synergy of xenobiotics in honey bee *Apis mellifera*: mechanisms and effects. 2013. *Acta Biologica Slovenica*. 56(1):11-25.
- Glinski Z., Rzedzicki J., Kostecki R., Kazmir Z., 1980. The influence of nitrofurans on worker bees and brood of *Apis mellifica* L. *Polskie Archiwum Weterynaryjne*. 21(4):449-457.
- Goethals E., De Meyer B., 2017. Het smeltgedrag van bijenwas. *Maandblad van de Vlaamse Imkersbond*. 103(3):18-21.
- Goorix P., 2015. Educatieve bijenstanden testen wasvervanger. *Maandblad van de Vlaamse Imkersbond*. 101(7):22.
- Gregorc A., Bowen I., 2000. Histochemical characterization of cell death in honeybee larvae midgut after treatment with *Paenibacillus larvae*, amitraz and oxytetracycline. *Cell Biology International*. 24(5):319-324.
- Gunes N., Cibik R., Gunes M.E., Aydin L., 2008. Erythromycin residue in honey from the Southern Marmara region of Turkey. *Food Additives & Contaminants: Part A*. 25(11):1313-1317.
- Haarmann T., Spivak M., Weaver D., Weaver B., Glenn T., 2002. Effects of fluvalinate and coumaphos on queen honey bees (Hymenoptera: Apidae) in two commercial queen rearing operations. *J Econ Entomol*. 95(1):28-35.
- Hannus S., Rosenkranz P., Ziegelmann B., 2017. *Lithium metal salt for use in treatment of varroa destructor mite infestation of honey bees*. World Intellectual Property Organization (WIPO) patent WO 2017/042240 A1.
- Hawthorne D.J., Dively G.P., 2011. Killing Them with Kindness? In-Hive Medications May Inhibit Xenobiotic Efflux Transporters and Endanger Honey Bees. *PLoS ONE*. 6(11):e26796.
- Hepburn H.R., Bernard R.T.F., Davidson B.C., Muller W.J., Llyod P., Kurstjens S.P., Vincent S.L., 1991. Synthesis and secretion of beeswax in honeybees. *Apidologie*. 22:21-36.
- Hladun K.R., Smith B.H., Mustard J.A., Morton R.R., Trumble J.T., 2012. Selenium Toxicity to Honey Bee (*Apis mellifera* L.) Pollinators: Effects on Behaviors and Survival. *PLoS ONE*. 7(4):e34137.
- HMA, 2018. *Authorised bee products: situation in Europe*. EMA/CMDv/497311/2009 rev. 14. Co-ordination Group for Mutual Recognition and Decentralised Procedures – Veterinary (CMDVv). European Medicines Agency (EMA). Cf. : http://www.hma.eu/fileadmin/dateien/Veterinary_medicines/CMDv_Website/Procedural_guidance/Miscellaneous/Bee_products_available_in_Europe.pdf.
- Hodgson C.J., Peronti A.L.B.G., 2012. A revision of the wax scale insects (Hemiptera: Sternorrhyncha: Coccoidea: *Ceroplastinae*) of the Afrotropical region. *Zootaxa*. 3372:1-265.
- Johnson R.M., 2015. Honey Bee Toxicology. *Annu. Rv. Entomol*. 60:415-34.
- Johnson R.M., Pollock H.S., Berenbaum M.R., 2009. Synergistic interactions between in-hive miticides in *Apis mellifera*. *J Econ Entomol*. 102(2):474-9.
- Johnson R.M., Ellis M.D., Mullin C.A., Frazier M., 2010. Pesticides and honey bee toxicity – USA. *Apidologie*. 41(2010):312-331.
- Johnson R.M., Dahlgren L., Siegfried B.D., Ellis M.D., 2013. Acaricide, fungicide and drug interactions in honey bees (*Apis mellifera*). *PLoS ONE*. 8(1):e54092
- Klowden M., 2013. *Physiological Systems in Insects*. Academic Press.
- Koedam D., Jungnickel H., Tentschert J., Jones G.R., Morgan E.D., 2002. Production of wax by virgin queens of the stingless bee *Melipona bicolor* (Apidae: Meliponinae). *Insectes Sociaux*. 49:229-233.

- Komosinska-Vassev K., Olczyk P., Kaźmierczak J., Mencner L., Olczyk K., 2015. Bee Pollen: Chemical Composition and Therapeutic Application. *Evid Based Complement Alternat Med.* 2015:297425.
- KonVIB/FAB-BBF, 2009. Guide de bonnes pratiques apicoles.
- Liu T.P., 1990. Ultrastructural changes in the secretion granules of the hypopharyngeal glands of the honeybee infected by *Nosema apis* and after treatment with fumagillin. *Tissue and Cell.* 22(4):523-531.
- Menapace D.M., Wilson W.T., 1979. Feeding oxytetracyclines as terramycin® does not aggravate chalkbrood infections. *Apidologie.* 10(2):167-174.
- Mullin C.A., Frazier M., Frazier J.L., Ashcraft S., Simonds R., vanEngelsdorp D., Pettis J.S., 2010. High Levels of Miticides and Agrochemicals in North American Apiaries: Implications for Honey Bee Health. *PLoS ONE.* 5(3):e9754.
- Nature et Progrès, 2012. Biocides et Abeilles. Rapport final du 8 novembre 2012. Développement d'une méthodologie d'analyse pour les autorisations de mise sur le marché de produits biocides et la mise à disposition d'une expertise pour les missions du service biocide dans le cadre de la protection des pollinisateurs. Cf. : https://www.health.belgium.be/sites/default/files/uploads/fields/fpshealth_theme_file/19099955/étude_biocides_abeilles.pdf.
- Nikolić T.V., Kojić D., Orčić S., Batinić D., Vukašinović E., Blagojević D.P., Purać J., 2016. The impact of sublethal concentrations of Cu, Pb and Cd on honey bee redox status, superoxide dismutase and catalase in laboratory conditions. *Chemosphere.* 164:98-105.
- OECD, 1998a. Test No. 213: Honeybees, Acute Oral Toxicity Test. Guidelines for the Testing of Chemicals, Section 2: Effects on Biotic Systems. Cf.: https://www.oecd-ilibrary.org/environment/test-no-213-honeybees-acute-oral-toxicity-test_9789264070165-en.
- OECD, 1998b. Test No. 214: Honeybees, Acute Contact Toxicity Test. Guidelines for the Testing of Chemicals, Section 2: Effects on Biotic Systems. Cf.: https://www.oecd-ilibrary.org/environment/test-no-214-honeybees-acute-contact-toxicity-test_9789264070189-en.
- OECD, 2011. Environment Directorate, Joint Meeting of the Chemicals Committee and The Working Party on Chemicals, Pesticides and Biotechnology ENV/JM/MONO(2011)2. OECD MRL calculator: user guide. *OECD Environment, Health and Safety Publications, Series on Pesticides.* 56:1–16. Cf.: [http://www.oecd.org/officialdocuments/publicdisplaydocumentpdf/?cote=env/jm/mono\(2011\)2&doclanguage=en](http://www.oecd.org/officialdocuments/publicdisplaydocumentpdf/?cote=env/jm/mono(2011)2&doclanguage=en).
- Oruc H.H., Hranitz J.M., Sorucu A., Duell M., Cakmak I., Aydin L., Orman A., 2012. Determination of acute oral toxicity of flumethrin in honey bees. *J. Econ. Entomol.* 105(6):1890-4.
- Ortelli D., Edder P., Corvi C., 2004. Analysis of chloramphenicol residues in honey by liquid chromatography–tandem mass spectrometry. *Chromatographia.* 59(1–2):61–64.
- Peng C.Y.-S., Mussen E., Fong A., Montague M.A., Tyler T., 1992. Effects of chlortetracycline of honey bee worker larvae reared in vitro. *Journal of invertebrate pathology.* 60(2):127-133.
- Peng C.Y.-S., Mussen E., Fong A., Cheng P., Wong G., Montague M.A., 1996. Laboratory and Field Studies on the Effects of the Antibiotic Tylosin on Honey Bee *Apis mellifera* L. (Hymenoptera: *Apidae*) Development and Prevention of American Foulbrood Disease. *Journal of invertebrate pathology* 67(1):65-71.
- Pesticide action network database. http://www.pesticideinfo.org/Docs/ref_ecotoxicity3.html#AvgGroupToxicity
- Pettis J.S., Collins A.M., Wilbanks R., Feldlaufer M.F., 2004. Effects of coumaphos on queen rearing in the honey bee, *Apis mellifera*. *Apidologie.* 35(6):605-610.
- Polykretis P., Delfino G., Petrocelli I., Cervo R., Tanteri G., Montori G., Perito B., Branca J.J.V., Morucci G., Gulisano M., 2016. Evidence of immunocompetence reduction induced by cadmium exposure in honey bees (*Apis mellifera*). *Environ Pollut.* 218:826-834.
- PPDB = Pesticide Properties DataBase (University of Hertfordshire): <http://sitem.herts.ac.uk/aeru/ppdb/en/index.htm>.
- Priestley C., Williamson E., Wafford K., Sattelle D., 2003. Thymol, a constituent of thyme essential oil, is a positive allosteric modulator of human GABA(A) receptors and a homo-oligomeric GABA receptor from *Drosophila melanogaster*. *British J. Pharmacol.* 140(8):1363-72.

- Rada V., Máchová M., Juk J., Marounek M., Dusková D., 1997. Microflora in the honeybee digestive tract: counts, characteristics and sensitivity to veterinary drugs. *Apidologie*. 28(6):357–365.
- Raimets R., Karise R., Mänd M., Kaart T., Ponting S., Song T., Cresswell J.-E., 2018. Synergistic interactions between a variety of insecticides and an ergosterol biosynthesis inhibitor fungicide in dietary exposures of bumble bees (*Bombus terrestris* L.). *Pest Manag Sci*. 74(3):541–546.
- Remon J.P., Jacobs F.J., 2003. *Beeswax mimetic substances and methods of operating beehives*. United States Patent US 6,585,557 B1.
- Reybroeck W., 2016. Rapport: studie van de toxiciteit van waswafels en detergenten.
- Reybroeck W., 2017. Field trial: effect of the addition of a mixture of stearic and palmitic acid (called stearin) to beeswax on the development of the worker bee brood. Final report: June 30, 2017. ILVO, Melle, BE: 1-14. Cf. : <https://www.health.belgium.be/fr/rapport-detude-dun-essai-en-champs-impact-de-lajout-de-la-stearine-la-cire-dabeilles-sur-le>.
- Reybroeck W., 2018a. Field trial: effect of the addition of stearic and palmitic acid to beeswax on the development of the worker bee brood. Final report: July 17, 2018. ILVO, Melle, BE: 1-22. Cf. : <https://www.health.belgium.be/fr/rapport-detude-sur-la-mortalite-du-couvain-causee-par-de-la-stearine-dans-la-cire-dabeilles>.
- Reybroeck W., 2018b. Residues of antibiotics and chemotherapeutics in honey. *Journal of Apicultural Research*. 57(1):97-112.
- Reybroeck W., Daeseleire E., De Brabander H.F., Herman L., 2012. Antimicrobials in beekeeping. *Vet Microbiol*. 158(1-2):1-11.
- Rinderer T., de Guzman L., Lancaster V., Delatte G., Stelzer J., 1999. *Varroa* in the mating yard: I. The effects of *Varroa jacobsoni* and Apistan® on drone honey bees. *Am. Bee J*. 139(2):134-139.
- Rowland S.J., Sutton P.A., 2017. Chromatographic and Spectral studies of jetsam and archived ambergris. *Natural Products Research*. 31(15):1752-1757.
- Sanchez-Bayo F., Goka K., 2014. Pesticide Residues and Bees – A Risk Assessment. *PLoS ONE*. 9(4):e94482.
- Semkiw P., Skubida P., 2013. Comb Construction and Brood Development on Beeswax Foundation Adulterated with Paraffin. *Journal of Apicultural Science*. 57(1):75-83.
- SciCom, 2013. Avis 08-2013 du Comité scientifique de l'AFSCA du 13 mars 2013. Evaluation du document « Scénario en cas d'intoxication aiguë d'abeilles communes par des pesticides » (dossier SciCom 2012/25).
- SciCom, 2015. Avis 12-2015 du Comité scientifique de l'AFSCA du 14 juillet 2015. Résidus de produits phytopharmaceutiques et de médicaments vétérinaires dans la cire d'abeille : analyse de scénarios de l'exposition chronique des consommateurs et proposition de limites d'action (dossier SciCom 2014/13).
- Sims S.R., Appel A.G., 2007. Linear alcohol ethoxylates: insecticidal and synergistic effects on German cockroaches (Blattodea: *Blattellidae*) and other insects. *J. Econ. Entomol*. 100(3):871-9.
- Stoner K.A., Eitzer B.D., 2013. Using a Hazard Quotient to Evaluate Pesticide Residues Detected in Pollen Trapped from Honey Bees (*Apis mellifera*) in Connecticut. *PLoS ONE*. 8(10):e77550.
- Sylvester H., Watts R., De Guzman L., Stelzer J., Rinderer T., 1999. *Varroa* in the mating yard: II. The effects of *Varroa* and fluvalinate on drone mating competitiveness. *Am. Bee J*. 139:225-227.
- Tavares D.A., Dussaubat C., Kretzschmar A., Carvalho S.M., Silva-Zacarin E.C.M., Malaspina O., Bérail G., Brunet J.L., Belzunces L.P., 2017. Exposure of larvae to thiamethoxam affects the survival and physiology of the honey bee at post-embryonic stages. *Environ Pollut*. 229:386-393.
- Thompson H.M., Waite R.J., Wilkins S., Brown M.A., Bigwood T., Shaw M., Ridgway C., Sharman M., 2005. Effects of European foulbrood treatment regime on oxytetracycline levels in honey extracted from treated honeybee (*Apis mellifera*) colonies and toxicity to brood. *Food Addit Contam*. 22(6):573-8.
- Thompson H.M., 2012. Interaction between pesticides and other factors in effects on bees. *EFSA Supporting Publications*. 2012:EN-340.

- Tlak Gajger I., Kosanovic M., Bilandzic N., Sedak M., Calopek B., 2016. Variations in lead, cadmium, arsenic, and mercury concentrations during honeybee wax processing using casting technology. *Archives of Industrial Hygiene and Toxicology*. 67:223-228.
- Traynor K.S., Pettis J.S., Tarpy D.R., Mullin C.A., Frazier J.L., Frazier M., vanEngelsdorp D., 2016. In-hive Pesticide Exposome: Assessing risks to migratory honey bees from in-hive pesticide contamination in the Eastern United States. *Sci Rep*. 6:33207.
- Ulrich D., 2003. *Method for removing coumafos from beeswax*. United States Patent n°US 6,586,610 B2.
- USEPA/HCPMRA/CDPR, 2014. Guidance for Assessing Pesticide Risks to Bees. United States Environmental Protection Agency: Washington, D.C. 20460. Health Canada Pest Management Regulatory Agency: Ottawa, ON, Canada. California Department of Pesticide Regulation: Sacramento, CA.
- Van den Heever J.P., Thompson T.S., Curtis J.M., Ibrahim A., Pernal S.F., 2014. Fumagillin: An Overview of Recent Scientific Advances and Their Significance for Apiculture. *J. Agric. Food Chem*. 2014(62):2728-2737.
- Vergaert S., 2017. *De Gesloten Waskringloop*. Honeybee Valley, Universiteit Gent.
- VSDB = Veterinary Substances DataBase (University of Hertfordshire): <http://sitem.herts.ac.uk/aeru/vsdb/index.htm>.
- Webster T.C., 1994. Fumagillin affects *Nosema apis* and honey bees (Hymenoptera: *Apidae*). *J. Econ. Entomol*. 87:601-604.
- Williamson S.M., Moffat C., Gomersall M.A., Saranzewa N., Connolly C.N., Wright G.A., 2013. Exposure to acetylcholinesterase inhibitors alters the physiology and motor function of honeybees. *Front Physiol*. 4:13.
- Wilmart O., Legrève A., Scippo M.-L., Reybroeck W., Urbain B., de Graaf D.C., Steurbaut W., Delahaut P., Gustin P., Nguyen B.K., Saegerman C., 2016. Residues in Beeswax: A Health Risk for the Consumer of Honey and Beeswax? *J Agric Food Chem*. 64(44):8425-8434.
- Winston M.L., 1987. *The Biology of the Honey Bee*. Harvard University Press. 281 p.
- Wolfmeier U., Schmidt H., Heinrichs F.-L., Michalczyk G., Payer W., Dietsche W., Hohner G., Wildgruber J., 1996. Waxes. In: *Ullmann's Encyclopedia of Industrial Chemistry*. 28A:103-122.
- Yu S.J., 2008. *The Toxicology and Biochemistry of Insecticides*. Boca Raton, FL: CRC Press. 1st ed.
- Zhu W., Schmehl D.R., Mullin C.A., Frazier J.L., 2014. Four common pesticides, their mixtures and a formulation solvent in the hive environment have high oral toxicity to honey bee larvae. *PLoS ONE*. 9(1):e77547.
- Ziegelmann B., Abele E., Hannus S., Beitzinger M., Berg S., Rosenkranz P., 2018a. Lithium chloride effectively kills the honey bee parasite *Varroa destructor* by a systemic mode of action. *Sci Rep*. 8(1):683.
- Ziegelmann B., Abele E., Hannus S., Beitzinger M., Berg S., Rosenkranz P., 2018b. Lithium chloride effectively kills the honey bee parasite *Varroa destructor* by a systemic mode of action. *Sci Rep*. 8(1):4201 (correction).

Présentation du Comité scientifique de l'AFSCA

Le Comité scientifique (SciCom) est un organe consultatif de l'Agence fédérale belge pour la Sécurité de la Chaîne Alimentaire (AFSCA) qui rend des **avis scientifiques indépendants** en ce qui concerne l'évaluation et la gestion des risques dans la chaîne alimentaire, et ce sur demande de l'administrateur délégué de l'AFSCA, du ministre compétent pour la sécurité alimentaire ou de sa propre initiative. Le Comité scientifique est soutenu administrativement et scientifiquement par la Direction d'encadrement pour l'évaluation des risques de l'Agence alimentaire.

Le Comité scientifique est composé de 22 membres, nommés par arrêté royal sur base de leur expertise scientifique dans les domaines liés à la sécurité de la chaîne alimentaire. Lors de la préparation d'un avis, le Comité scientifique peut faire appel à des experts externes qui ne sont pas membres du Comité scientifique. Tout comme les membres du Comité scientifique, ceux-ci doivent être en mesure de travailler indépendamment et impartialement. Afin de garantir l'indépendance des avis, les conflits d'intérêts potentiels sont gérés en toute transparence.

Les avis sont basés sur une évaluation scientifique de la question. Ils expriment le point de vue du Comité scientifique qui est pris en consensus sur la base de l'évaluation des risques et des connaissances existantes sur le sujet.

Les avis du Comité scientifique peuvent contenir des **recommandations** pour la politique de contrôle de la chaîne alimentaire ou pour les parties concernées. Le suivi des recommandations pour la politique est la responsabilité des gestionnaires de risques.

Les questions relatives à un avis peuvent être adressées au secrétariat du Comité scientifique : Secretariat.SciCom@afsca.be

Membres du Comité scientifique

Le Comité scientifique est composé des membres suivants :

S. Bertrand*, M. Buntinx, A. Clinquart, P. Delahaut, B. De Meulenaer, N. De Regge, S. De Saeger, J. Dewulf, L. De Zutter, M. Eeckhout, A. Geeraerd, L. Herman, P. Hoet, J. Mahillon, C. Saegerman, M.-L. Scippo, P. Spanoghe, N. Speybroeck, E. Thiry, T. van den Berg, F. Verheggen, P. Wattiau**

* membre jusqu'en mars 2018

** membre jusqu'en juin 2018

Conflit d'intérêts

Aucun conflit d'intérêts n'a été signalé.

Remerciements

Le Comité scientifique remercie la Direction d'encadrement pour l'évaluation des risques et les membres du groupe de travail pour la préparation du projet d'avis.

Composition du groupe de travail

Le groupe de travail était composé de :

Membres du Comité scientifique :	C. Saegerman (rapporteur), P. Delahaut, M.-L. Scippo, P. Spanoghe
Experts externes :	D. de Graaf (UGent), A. Legrève (UCLouvain), B.K. Nguyen (ULiège – GxABT), W. Reybroeck (ILVO), W. Steurbaut (UGent), B. Urbain (AFMPS)
Gestionnaire du dossier :	O. Wilmart

Les activités du groupe de travail ont été suivies par les membres de l'administration suivants (comme observateurs) : P. De Winter, X. Patigny et B. Verhoeven de l'Agence fédérale pour la Sécurité de la Chaîne alimentaire, et N. Kollmorgen et Q. Dumont de Chassart du SPF Santé publique, Sécurité de la Chaîne alimentaire et Environnement.

Cadre juridique

Loi du 4 février 2000 relative à la création de l'Agence fédérale pour la Sécurité de la Chaîne alimentaire, notamment l'article 8 ;

Arrêté royal du 19 mai 2000 relatif à la composition et au fonctionnement du Comité scientifique institué auprès de l'Agence fédérale pour la Sécurité de la Chaîne alimentaire ;

Règlement d'ordre intérieur visé à l'article 3 de l'arrêté royal du 19 mai 2000 relatif à la composition et au fonctionnement du Comité scientifique institué auprès de l'Agence fédérale pour la Sécurité de la Chaîne alimentaire, approuvé par le Ministre le 8 juin 2017.

Disclaimer

Le Comité scientifique conserve à tout moment le droit de modifier cet avis si de nouvelles informations et données deviennent disponibles après la publication de cette version.

Annexe 1 : Informations détaillées relatives à la pharmacodynamie et à la toxicité des substances actives dont l'utilisation (légale ou illégale) comme médicament vétérinaire en apiculture est connue.

Une revue de la tolérance aux médicaments vétérinaires pour les abeilles est présentée ci-dessous. Elle est basée sur l'information présente dans les RCP (résumé des caractéristiques du produit) des médicaments vétérinaires et sur base de la littérature scientifique publiquement disponible.

Le tableau ci-dessous résume de manière générale pour chaque substance active ou combinaison de substances actives présentes dans des médicaments à usage vétérinaire pour les abeilles, l'indication thérapeutique, le mode d'action (PD, pharmacodynamie), la posologie recommandée (PO), les effets secondaires (ES) observés suite à l'utilisation recommandée des produits et les effets de surdosage (OV, overdose). Une description précise des propriétés des médicaments est disponible dans les RCP (résumé des caractéristiques du produit).

Les médicaments vétérinaires cités ci-dessous ne disposent pas tous d'une autorisation de mise sur le marché (AMM) en Belgique. Cependant, certains d'entre eux peuvent être utilisés en apiculture sur base du système de la « cascade » conformément au Règlement (UE) n°2018/470 (cf. également <https://www.afmps.be/fr/veterinaire/medicaments/medicaments/distribution/cascade>). Les médicaments vétérinaires disponibles dans l'Union européenne (UE) sont répertoriés dans le document EMA/CMDv/497311/2009 rev. 14 (HMA, 2018).

La liste des produits commerciaux n'est pas exhaustive.

Type de substance active	Substance active	Indication	Dénomination commerciale (liste non exhaustive)	PD PO ES OV	Pharmacodynamie et Toxicité	Référence
Varroacides	Acide oxalique/acide formique	Varroose due à <i>Varroa destructor</i>	VARROMED® 5 mg/ml + 44 mg/ml dispersion pour ruche d'abeilles ^a	PD	Le mode d'action de l'acide oxalique contre le varroa est inconnu, mais un contact direct entre les acariens et l'acide oxalique est requis. Il est supposé que l'acide oxalique agit par contact direct ou par ingestion d'hémolymphe contenant de l'acide oxalique. L'effet acaricide pourrait être dû principalement au faible pH de la formulation. L'acide formique agit probablement sur les varroas en inhibant le transport des électrons dans les mitochondries en se liant au cytochrome c oxydase, inhibant ainsi le métabolisme énergétique et pouvant induire une excitation des neurones des acariens.	

Type de substance active	Substance active	Indication	Dénomination commerciale (liste non exhaustive)	PD PO ES OV	Pharmacodynamie et Toxicité	Référence
				PO	Dispersion aqueuse entre les cadres de 15 à 45 ml (0.5 % acide formique/4.4 % acide oxalique dihydrate) en fonction de la taille de la colonie. L'administration peut être répétée.	
				ES	Une augmentation de la mortalité des ouvrières a été observée très fréquemment après un traitement par VARROMED®. Cet effet, qui est considéré comme associé à l'acide oxalique, s'est intensifié avec l'augmentation des doses et/ou la répétition des traitements.	
				OV	Surdosage : des lésions permanentes des organes digestifs et excréteurs ont été observées 72 h après l'administration d'une solution à 10 % d'acide oxalique dihydrate dans une solution de sucre à 50 % ; des concentrations d'acide oxalique de 20 % dans une solution de sucre à 50 % ont entraîné des mortalités aiguës d'abeilles dépassant 60 %.	
Varroacides	Acide formique	Varroose due à <i>Varroa destructor</i>	MITE AWAY QUICK STRIPS (MAQS)® acide formique 68,2 G bande pour abeille ^b	PD	Cet acide agit probablement sur <i>Varroa</i> en inhibant le transport des électrons dans les mitochondries en se liant au cytochrome c oxidase, inhibant ainsi le métabolisme énergétique et pouvant induire une excitation des neurones des acariens.	
				PO	1 sachet (soit 2 bandes) par ruche. La période de traitement est de 7 jours. Prévoir un minimum d'un mois entre les applications.	
				ES	L'acide formique peut perturber l'activité des colonies et provoquer un rejet de la reine ou provoquer une légère augmentation de la mortalité chez les abeilles adultes et altérer la survie du couvain. Utilisé à des températures de 10 à 29.5 °C, la santé de la colonie n'est globalement pas affectée, avec une activité revenant à la normale après le traitement. L'utilisation à des températures supérieures peut entraîner une mortalité excessive du couvain et une perte de la reine.	
				OV	Une overdose peut conduire à une perte excessive du couvain, mortalité des abeilles adultes, perte ou fuite de la reine.	

Type de substance active	Substance active	Dénomination commerciale (liste non exhaustive)	PD PO ES OV	Pharmacodynamie et Toxicité	Référence
Varroacides	Acide oxalique	Indication Varroose due à <i>Varroa destructor</i> OXUVAR® 5,7 %, 41,0 mg/ml solution à diluer pour abeilles ^a DANY'S BIENENWOHL® (39,4 mg/ml) OXYBEE® (39,4 mg/ml)	PD	Le mode d'action de l'acide oxalique contre le varroa est inconnu, mais un contact direct entre les acariens et l'acide oxalique est requis. Il est supposé que l'acide oxalique agit par contact direct ou par ingestion d'hémolymphe contenant de l'acide oxalique. L'effet acaricide pourrait être dû principalement au faible pH de la formulation.	
			PO	Application par égouttement sur les allées de cadre d'une solution sucrée à 3.5 % (m/v) d'acide oxalique dihydrate ou par pulvérisation d'une solution à 3 % (m/v) d'acide oxalique dihydrate.	
			ES	Lors du traitement la colonie peut être agitée. Le traitement par dégouttement peut conduire à un léger affaiblissement de la colonie au printemps. Le traitement par dégouttement ou par pulvérisation peut augmenter la mortalité des abeilles. Le traitement répété de colonies avec cet acide peut entraîner une mortalité plus importante des reines et une diminution de couvain operculé.	
			OV	Un surdosage peut conduire à une augmentation de la mortalité des abeilles et à une mauvaise fin d'hivernage au printemps. La répétition des traitements durant la même saison peut conduire à une mortalité accrue des abeilles et à un effet négatif sur le développement du couvain voire la perte de la reine.	
Varroacides	Amitraze	Indication Varroose due à <i>Varroa destructor</i> APIVAR® APITRAZ® 500 mg lanière pour abeilles ^b	PD	L'amitraze est une substance de synthèse à activité acaricide et insecticide de la famille des formamidines. Son mode d'action est de type neurotoxique. L'amitraze agit principalement comme inhibiteur des récepteurs octopaminergiques, conduisant à une inhibition de l'influx neurologique physiologique. Il en résulte une paralysie du parasite, permettant son élimination naturelle par simple gravité.	
			PO	Utiliser deux lanières par ruche, et les suspendre entre les cadres au niveau de la grappe d'abeilles.	
			ES	L'amitraze est peu toxique chez les abeilles.	

Type de substance active	Substance active	Indication	Dénomination commerciale (liste non exhaustive)	PD PO ES OV	Pharmacodynamie et Toxicité	Référence
				OV	A une fois et demie la dose recommandée, administrée pendant une période de 8 semaines, une légère augmentation de la mortalité des abeilles a été observée.	
Varroacides	Coumaphos	Varroose due à <i>Varroa destructor</i>	PERIZIN® (32 mg/ml = 3,2 %)⁽ᵇ⁾ CHECKMITE PLUS® (1,36 g/lanière)⁽ᵇ⁾	PD	Le coumaphos est un organophosphoré et agit par inhibition de la cholinestérase.	Johnson et al. (2010)
				PO	Égouttement de la solution concentrée diluée 50X.	
				ES	Les abeilles tolèrent des doses thérapeutiques grâce à l'activité détoxifiante du cytochrome P450 (Johnson et al. (2009) cité par Johnson et al. (2010)). Cependant les reines exposées au coumaphos sont plus petites, montrent une mortalité accrue et sont plus susceptibles d'être rejetées suite à l'introduction dans une colonie (Haarmann et al., 2002 ; Collins et al., 2004 ; Pettis et al. (2004) cité par Johnson et al. (2010)). L'exposition de bourdons à la dose recommandée pendant le développement et la maturation sexuelle réduit significativement la viabilité du sperme (Burley et al. (2008) cité par Johnson et al. (2010)). Des abeilles immatures exposées au coumaphos montrent une mortalité accrue de leur descendance (Berry et al., 2013).	Berry et al. (2013) Burley et al. (2008) Collins et al. (2004) Haarmann et al. (2002) Johnson et al. (2009) Johnson et al. (2010) Pettis et al. (2004) Williamson et al. (2013)
Varroacides	Fluméthrine	Varroose due à <i>Varroa destructor</i>	POLYVAR YELLOW® 275 mg ruban pour ruche⁽ᵃ⁾ BAYVAROL® 3,6 mg ruban pour ruche⁽ᵇ⁾	OV	Pas d'information disponible.	
				PD	La fluméthrine est un ectoparasiticide du groupe des pyréthriinoïdes de synthèse. Ceux-ci interfèrent avec le canal sodique des membranes des cellules nerveuses pendant l'excitation, ce qui induit une succession prolongée de stimulations répétitives menant finalement à la mort du parasite.	

Type de substance active	Substance active	Indication	Dénomination commerciale (liste non exhaustive)	PD PO ES OV	Pharmacodynamie et Toxicité	Référence
				PO	POLYVAR YELLOW® : utiliser deux rubans par ruche standard à l'entrée de la ruche de manière à ce que les abeilles ne puissent entrer ou sortir qu'en passant à travers les trous de ruban. BAYVAROL® : les rubans sont placés entre les cadres de la ruche.	
				ES	Aucun effet indésirable pour les abeilles n'est connu lors de l'utilisation recommandée des produits.	
				OV	Aucun effet indésirable pour les abeilles n'est connu lors de tests d'overdose.	
Varroacides	tau-Fluvalinate	Varroose due à <i>Varroa destructor</i>	APISTAN® ^b	PD	Le tau-fluvalinate est un antiparasitaire externe de la classe des cyanopyréthrénoïdes qui agit par dépolarisation rapide des membranes axonales. Chez le parasite <i>Varroa destructor</i> , l'absorption de la molécule est rapide et la mort est due à l'hyperexcitabilité et l'épuisement nerveux.	
				PO	Deux lanières par ruche (une lanière contient 0.8 g de tau-fluvalinate).	
				ES	Aucun effet indésirable pour les abeilles n'est connu lors de l'utilisation recommandée des produits.	Haarman et al. (2002) Johnson et al. (2010) Rinderer et al. (1999) Sylvester et al. (1999)
				OV	Des reines exposées à de hautes doses sont plus petites que les non-traitées (Haarmann et al. (2002) cité par Johnson et al. (2010)).	Haarmann et al. (2002) Johnson et al. (2010)

Type de substance active	Substance active	Dénomination commerciale (liste non exhaustive)	PD PO ES OV	Pharmacodynamie et Toxicité	Référence
Varroacides	Thymol	Varroose due à <i>Varroa destructor</i> APIGUARD®, gel (25 % thymol) pour traitement dans la ruche ^a THYMOVAR® 15 g plaquette pour ruche pour abeilles ^a	PD	Le thymol est un phénol (composant monoterpénoïde) d'huiles essentielles. Son mécanisme d'action envers le varroa n'est pas complètement connu. Du fait de ses propriétés lipophiles, le thymol s'accumule préférentiellement dans la cire.	
			PO	Des essais de laboratoire ont mis en évidence une toxicité pour les larves mais à des niveaux supérieurs à ceux retrouvés dans le miel et le pollen.	
			ES	APIGUARD® : 2 applications successives de 50 g de gel (12,5 g thymol) par colonie à 2 semaines d'intervalle ; 2 traitements par an, au maximum. THYMOVAR® : une à deux plaquettes (contenant 15 g de thymol) selon le type de ruche sur les baquettes supérieures des cadres.	
			OV	Le thymol est relativement bien toléré quand il est utilisé selon les recommandations des notices pour l'utilisateur. Une légère agitation de la colonie durant les jours suivant l'application est possible. Occasionnellement, par forte température, il est possible de constater une légère perturbation de la colonie et une mortalité peu élevée du couvain et des abeilles. Ce phénomène est transitoire et n'a pas d'effet sur le développement de la colonie. Le traitement des colonies peut parfois entraîner une réduction partielle du couvain d'abeilles. Si la phase d'alimentation coïncide avec celle du traitement, une réduction de l'acceptation de la nourriture peut être observée. Le couvain trop proche du médicament peut aussi être déplacé aussi par les abeilles.	
			OV	L'utilisation d'une dose supérieure à celle recommandée peut causer des perturbations du comportement de la colonie (agitation, abandon) ou une augmentation de la mortalité.	

Type de substance active	Substance active	Indication	Dénomination commerciale (liste non exhaustive)	PD PO ES OV	Pharmacodynamie et Toxicité	Référence	
Varroacides	Thymol/Levomenthol/eucalyptus oil/camphre	Varroose due à <i>Varroa destructor</i>	APILIFE VAR® Plaquelette pour ruche pour abeilles ^a	PD	Le thymol, le menthol, l'eucalyptol et le camphre sont des terpénoïdes. Le mode précis d'action de ces huiles essentielles n'est pas connu. Elles agiraient probablement directement sur le varroa par contact et inhalation, résultant en un détachement du varroa des abeilles. Le thymol se lie aux récepteurs d'octopamine (Enan, 2001 cité par Glavan et Bozic, 2013) et à l'acétylcholine-estérase (Priestley et al, 2003 cité par Glavan et Bozic, 2013) et aussi à la tyramine et aux récepteurs GABA (Bleneau et al, 2011 cité par Glavan et Bozic, 2013).	Bleneau et al. (2011) Enan (2001) Glavan et Bozic (2013) Priestley et al. (2003)	
				PO			Une plaquelette par ruche tous les 7 jours, un traitement complet est réalisé à l'aide 4 plaquettes pour chaque ruche. Le traitement doit être réalisé une fois par an. Chaque plaquelette pour ruche contient : Thymol 8,00 g ; Huile essentielle d'Eucalyptus 1,72 g ; Camphre racémique 0,39 g ; Lévométhol 0,39 g.
				ES			Les abeilles peuvent déplacer la nourriture située sous la plaquelette. Le traitement réalisé à une température supérieure à 30 °C peut augmenter le stress et la mortalité des abeilles et du couvain. Une légère agitation de la ruche peut être observée pendant le traitement. Si la phase d'alimentation coïncide avec celle du traitement, une réduction de l'acceptation de la nourriture peut être observée.
				OV			Un surdosage peut perturber les abeilles en augmentant le stress et en les poussant à modifier leur comportement de telle sorte qu'elles sortent de la ruche et restent dehors.

Type de substance active	Substance active	Dénomination commerciale (liste non exhaustive)	PD PO ES OV	Pharmacodynamie et Toxicité	Référence
Antibiotiques et agents thérapeutiques	Chloramphénicol	Loque américaine due à <i>Paenibacillus larvae</i> (notamment en Chine (Ortelli et al. (2004), cité par Reybroeck et al. (2012)).	PD	Antibiotique bactériostatique à très large spectre, actif contre la plupart des bactéries GRAM+ et -, aérobies et anaérobies, les rickettsies, les chlamydiae, ainsi que certains mycoplasmes. Le chloramphénicol est un puissant inhibiteur de la synthèse protéique bactérienne. Il se lie de manière irréversible à la sous-unité 50 S des ribosomes.	CBIPvet
			PO	Aucune information n'est disponible.	
			ES	L'incorporation au régime alimentaire de 0,5 g/l de chloramphénicol (1,6 mM) entraîne une diminution significative des concentrations protéiques de l'hémolymphe d'abeilles.	ANSES (2015) Bounias et al. (1982)
Antibiotiques et agents thérapeutiques	Erythromycine	Loque européenne due à <i>Melissococcus plutonius</i> (notamment dans le sud de la Turquie selon Gunes et al. (2008)).	OV	Aucune information n'est disponible.	
			PD	L'érythromycine est un macrolide bactéricide ou bactériostatique selon la dose. Les macrolides sont actifs contre diverses bactéries aérobies et anaérobies GRAM+ et quelques bactéries GRAM-. Les macrolides agissent au niveau de la sous-unité 50S ribosomale et inhibent ainsi la synthèse protéique du pathogène.	CBIPvet
			PO	Aucune information n'est disponible.	
			ES	Aucune information n'est disponible.	
			OV	Aucune information n'est disponible.	

Type de substance active	Substance active	Indication	Dénomination commerciale (liste non exhaustive)	PD PO ES OV	Pharmacodynamie et Toxicité	Référence
Antibiotiques et agents chimiothérapeutiques	Fluoroquinolones (enrofloxacin,	Pas d'indication précise.		PD PO ES OV	Les fluoroquinolones ont une activité bactéricide. Elles sont actives contre les aérobies GRAM-, les mycoplasmes et les rickettsies. Les fluoroquinolones agissent par inhibition des protéines (topoisomérases) qui stabilisent la structure tridimensionnelle de l'ADN bactérien, dont l'ADN gyrase. Aucune information n'est disponible. Aucune information n'est disponible. Aucune information n'est disponible.	CBIPvet
Antibiotiques et agents chimiothérapeutiques	Fumagilline	Nosémoze.	Fumagilin-B Soluble Powder® (Canada)	PD PO ES OV	La fumagilline est un cyclohexane isolé d' <i>Aspergillus fumigatus</i> actif contre les microsporidies, parasites intracellulaires obligés. 25 mg de fumagilline base par litre de sirop dans un rapport 2 :1 (sucre/eau) Chez les abeilles infectées et traitées à la fumagilline (25 µg/ml dans une solution de sucrose pendant 24 heures), on observe des changements ultra-structuraux des granules de sécrétion qui sont probablement associés à une modification de l'activité sécrétrice de ces glandes. La fumagilline semble avoir des effets inhibiteurs sur les glandes hypopharyngiennes des abeilles infectées. A la dose de 50 mg/L de sirop pendant 7 jours chez des abeilles infectées par <i>Nosema apis</i> , peu d'effets délétères ont été observés (Webster (1994) cité par Van den Heever et al. (2014)). A la dose de 140 mg de fumagilline dans du sirop des effets significatifs sur la mortalité ont été observés dans une étude expérimentale où 150-200 abeilles par cage ont été traitées (Rada et al. (1997) cité par Van den Heever et al. (2014)).	ANSES (2015) Liu (1990) Rada et al. (1997) Van den Heever et al. (2014) Webster (1994)
Antibiotiques et agents chimiothérapeutiques	Lincomycine	Loque américaine due à <i>Paenibacillus larvae</i> (aux USA et au Canada).	LINCOMIX® NADA 111-636 ^c	PD	La lincomycine est active contre les bactéries GRAM+ aérobies et anaérobies et les mycoplasmes. Elle est bactéricide ou bactériostatique selon la dose et agit au niveau de la sous-unité 50 S ribosomale inhibant ainsi la synthèse protéique du pathogène.	CBIPvet

Type de substance active	Substance active	Indication	Dénomination commerciale (liste non exhaustive)	PD PO ES OV	Pharmacodynamie et Toxicité	Référence
				PO	La posologie est de 100 mg de lincomycine administré dans 20 g de sucre en poudre par ruche une fois par semaine pendant 3 semaines.	
				ES	Lors d'un traitement à la posologie de 200 mg par ruche dans du sirop (200 mg/20 g de sucre en poudre (1 %)), une fois par semaine pendant 3 semaines, aucun effet sur la mortalité n'a été observé sur les larves, adultes et reines.	ANSES (2015) Feldlaufer et al. (2001)
				OV	Suite à 9 applications à la dose 600 mg ou 1000 mg par ruche dans du sucre (<i>dust confectioners sugar</i>), aucun effet sur la mortalité n'a été observé sur les larves et adultes (Feldlaufer et al. (2001) cité par ANSES (2015)).	
Antibiotiques et agents chimiothérapeutiques	Nitrofuranes (furazolidone)	Pas d'indication précise.		PD	Les nitrofuranes ont un large spectre d'activité tant sur les micro-organismes Gram positif que Gram négatif, et même sur les anaérobies. L'activité bactéricide réside dans l'interférence de la molécule avec différents systèmes enzymatiques bactériens.	CBIPvet
				PO	Aucune information n'est disponible.	
				ES	Chez des colonies nourries avec du sirop contenant 175 et 350 mg/ml de nitrofurazone ou d'endofurane ou de nitrofurantoïne, seul ce dernier a provoqué un déclin de l'élevage du couvain et de la ponte d'œufs.	Glinski et al. (1980)
				OV	Aucune information n'est disponible	
Antibiotiques et agents chimiothérapeutiques	Nitroimidazole (dimétridazole,	Nosémoze (usage illégal en Chine).		PD	Les nitroimidazoles possèdent une structure en anneau avec un groupe azoté. La réduction du groupement azoté s'opère dans le parasite, formant ainsi des radicaux libres endommageant les macromolécules du parasite.	CBIPvet
				PO	Aucune information n'est disponible.	
				ES	Aucune information n'est disponible.	
				OV	Aucune information n'est disponible.	

Type de substance active	Substance active	Dénomination commerciale (liste non exhaustive)	PD PO ES OV	Pharmacodynamie et Toxicité	Référence
Antibiotiques et agents chémotherapeutiques	Oxytétracycline	Loque américaine due à <i>Paenibacillus larvae</i> et loque européenne due à <i>Melissococcus plutonius</i> (aux USA et au Canada, et en France jusqu'en 2015). Loque européenne due à <i>Melissococcus plutonius</i> au Royaume-Uni.	PD	Les tétracyclines sont des antibiotiques bactériostatiques dont le spectre d'activité s'étend à de nombreuses bactéries GRAM+ et GRAM-, aérobies et anaérobies, aux mycoplasmes, aux chlamydiae, aux rickettsies et à certains protozoaires. Ils agissent par inhibition de la synthèse protéique en interférant avec la sous-unité 30S ribosomale.	CBIPvet
			PO	La posologie est de 200 mg OXTC HCl par colonie. Administrer en 3 applications de sirop ou de poudrage à 4 à 5 jours d'intervalle. La concentration d'oxytétracycline sous-forme de sirop est d'environ 0,008 %.	Thompson et al. (2005)
ES	Aucune donnée de tolérance n'est renseignée pour l'application par sirop. Cependant, il est contre-indiqué d'administrer la poudre sur le couvain non operculé car l'OXTC peut induire de la mortalité larvaire. Une augmentation significative de la mortalité du couvain à tous les stades de développement a été observée par Thompson et al. (2005). Selon la littérature, l'oxytétracycline pourrait perturber l'équilibre de la microflore de l'intestin des abeilles favorisant la croissance d' <i>Ascospaera apis</i> . Des concentrations supérieures à 0,0025 % en chlortétracycline (CTC) retardent la croissance et le développement larvaire et entraînent une pigmentation précoce des jeunes larves (inoculées avec <i>Paenibacillus larvae</i>). A 0,05 % de CTC, les auteurs observent 100 % de mortalités larvaires.	ANSES (2015) Menapace et Wilson (1979) Flores et al. (2004) Peng et al. (1992)			
			OV	Pas d'information disponible.	

Type de substance active	Substance active	Dénomination commerciale (liste non exhaustive)	PD PO ES OV	Pharmacodynamie et Toxicité	Référence
Antibiotiques et agents chimiothérapeutiques	Streptomycine	Loque européenne due à <i>Melissococcus plutonius</i> selon Farrar (1960). Loque américaine due à <i>Paenibacillus larvae</i> (en Chine selon Orтели et al. (2004) cité par Reybroeck et al. (2012)).	PD	La streptomycine est un aminoglycoside à effet bactéricide qui, après pénétration à travers la paroi bactérienne, interfère avec la sous-unité 30S des ribosomes pour inhiber la synthèse protéique. L'action bactéricide s'exerce surtout sur les bactéries aérobies GRAM- ainsi que sur certains mycoplasmes et mycobactéries.	CBIPvet
			PO	Streptomycine sulfate ou dihydro-streptomycine sulfate aux concentrations de 600 mg par gallon de 2:1 sirop (2 onces/100 gallons) administrée 3 fois sur une période de 2 semaines par gavage.	
			ES	La streptomycine est peu toxique pour les abeilles ($DL_{50} = 11-100 \mu\text{g}/\text{abeille}$).	Pesticide action network database
			OV	Aucune information n'est disponible.	

Type de substance active	Substance active	Dénomination commerciale (liste non exhaustive)	PD PO ES OV	Pharmacodynamie et Toxicité	Référence
Antibiotiques et agents chimiothérapeutiques	Sulfamides (sulfathiazole)	Loque américaine due à <i>Paenibacillus larvae</i> et loque européenne due à <i>Melissococcus plutonius</i> . Nosémose (notamment en Argentine selon Anon. (2011) cité par Reybroeck et al. (2012)).	PD PO ES OV	Les sulfamidés sont des substances bactériostatiques dont le spectre comprend les bactéries GRAM+ et GRAM- aérobies et anaérobies, les chlamydies, les toxoplasmes et les coccidies. Le triméthoprim est aussi une substance bactériostatique active contre les bactéries GRAM- et GRAM+. Les sulfamidés agissent par inhibition compétitive de l'incorporation de l'acide para-aminobenzoïque (PABA) dans la chaîne de synthèse d'acide folique par l'enzyme dihydroptéroate synthétase. Le triméthoprim est une substance bactériostatique inhibant aussi la synthèse de l'acide folique, dont la cible enzymatique, l'enzyme dihydrofolate réductase, est différente de celle des sulfamidés. Cette double activité sur deux enzymes différents d'une même chaîne métabolique est à la base de la synergie entre les sulfamidés et le triméthoprim. Les combinaisons, souvent dans un rapport de 5/1, deviennent bactéricides. Aucune information n'est disponible. Aucune information n'est disponible. Aucune information n'est disponible.	CBIPvet
Antibiotiques et agents chimiothérapeutiques	Tilmicosine	Loque américaine due à <i>Paenibacillus larvae</i> (notamment en Argentine selon Reynaldi et al. (2008)).	MICOTIL® PD PO ES OV	La tilmicosine est un macrolide bactéricide ou bactériostatique selon la dose. Les macrolides sont actifs contre diverses bactéries aérobies et anaérobies GRAM+ et quelques bactéries GRAM-. Les macrolides agissent au niveau de la sous-unité 50S ribosomale et inhibent ainsi la synthèse protéique du pathogène. 1000 mg dans 55 g de préparation sucrée. Pas de toxicité envers les abeilles adultes et les larves aux doses testées. Pas d'information disponible.	Reynaldi et al. (2008)

Type de substance active	Substance active	Dénomination commerciale (liste non exhaustive)	PD PO ES OV	Pharmacodynamie et Toxicité	Référence
Antibiotiques et agents chimiothérapeutiques	Loque américaine due à <i>Paenibacillus larvae</i> (aux USA et au Canada).	TYLAN® soluble (NADA-013-076) ^c	PD	La tylosine est un macrolide bactéricide ou bactériostatique selon la dose. Les macrolides sont actifs contre diverses bactéries aérobies et anaérobies GRAM+ et quelques bactéries GRAM-. Les macrolides agissent au niveau de la sous-unité 50S ribosomale et inhibent ainsi la synthèse protéique du pathogène.	
	Tylosine		PO	La posologie est de 200 mg de tylosine tartrate par ruche administré dans 20 g de sucre en poudre une fois par semaine pendant 3 semaines.	
			ES	Lors d'un traitement à la posologie recommandée de 200 mg par ruche dans du sirop (200 mg/20 g de sucre en poudre (1 %)), une fois par semaine pendant 3 semaines, aucun effet sur la mortalité n'a été observé sur les larves, adultes et reines.	
			OV	Pas d'information disponible. Cependant d'après Peng et al. (1996) cité par ANSES (2015), les larves d'abeilles peuvent tolérer des doses de 0,005 à 0,05 % de tylosine dans leur alimentation sans effet négatif observé. Par contre pour des doses de 0,5 % et plus en tylosine, les mortalités larvaires augmentent. Lors d'un traitement à 600 et 1000 mg par ruche dans du sirop (20 g de sucre), une fois par semaine pendant 3 semaines, aucun effet sur la mortalité n'a été observé sur les larves et adultes.	ANSES (2015) Peng et al. (1996)

Légende :

PD = mode d'action (pharmacodynamie), PO = posologie recommandée, ES = effets secondaires, OV = effets de surdosage (overdose)

Notes :

^a = autorisé en Belgique.

^b = pas d'AMM en Belgique ; autorisé dans au moins un Etat Membre de l'UE.

^c = Freedom of Information Summary (U.S. Food and Drug Administration (FDA)).

Annexe 2 : Aperçu des substances chimiques détectées dans la cire d'abeille selon différentes références scientifiques, de leur toxicité aigüe par contact et par voie orale pour l'abeille (larve ou adulte) ainsi que de leur solubilité dans l'octanol.

Substance chimique	Code couleur	Détection dans la cire d'abeille selon :				DL ₅₀ par voie orale (µg larve ⁻¹) selon :		DL ₅₀ par contact (µg abeille ⁻¹) selon :					DL ₅₀ par voie orale (µg abeille ⁻¹) selon :		DL ₅₀ sans précision du mode d'exposition (µg abeille ⁻¹) selon :		Coefficient de partition octanol-eau à pH 7, 20 °C (Log P) selon PPDB/VSDB	Note
		Wilmart et al. (2016)	Calatayud-Vernich et al. (2017)	Daniele et al. (2018)	El Agrebi et al. (2018a, b, c)	Dai et al. (2017)	Charpentier et al. (2014)	PPDB/VSDB	Stoner et Eitzer (2013)	Sanchez-Bayo et Goka (2014)	PPDB/VSDB	Stoner et Eitzer (2013)	Sanchez-Bayo et Goka (2014)	Oruc et al. (2012)	PPDB/VSDB	Mullin et al. (2010)		
		Acétamipride		x					8,09			14,53				/		
Acrinathrine		x	x	x			0,084	0,17	0,077	0,12			/			6,3		
Amitraze (métabolites inclus)		x	x		x	14,83	50		/				/	75		5,5		
Atrazine		x					100	97	100				/	98		2,7		
Azinphos-méthyl		x	x				0,42	0,42	/	0,15			/	0,242		2,96		
Azoxystrobine					x		200	200	25				/	112		2,5		
Biphényle					x		/		/				/			3,98		
Bitertanol		x					200		104,4				/			4,1		
Boscalid		x		x	x		200	200	100	166			/	155		2,96		
Bromophos		x					0,44		/				/			5,21		
Bromopropylate		x			x		/		/				183			5,4		

Captane		x		x		200			100		/	108	2,5	
Carbendazime		x	x	x		50	50		756		/	50	1,48	
Carbofuran		x				0,036	0,16	0,16	0,05		/		1,8	
Chloramphénicol		x				/			/		/		1,14	
Chlordiméform		x				120			/		/		2,89	
Chlorfenvinphos		x	x	x		/		4,1	0,55		/		3,8	
Chloropropylate				x		/			/		/		4,41	
Chlorothalonil		x		x		101		135,3	63		/	111	2,94	
Chlorprophame		x		x		86			466		/		3,76	
Chlorpyrifos (-éthyl)		x	x	x	0,46	0,059	0,01	0,07	0,25	0,25	0,24	/	0,122	4,7
Coumaphos		x	x	x	2,70	/	24	20,29	/		4,61	25	4,63	3,86
Cyfluthrine		x				0,001		0,03	0,05		0,05	/	0,022	6
Cymiazole		x				/			/			50	0,6	
Cyperméthrine		x		x		0,02		0,03	0,035		0,06	/	0,135	5,3
Cyprodinil		x		x		784	784		112,5		/	332	4	
p,p'-DDE (dichlorodiphényldichloroéthylène)		x		x		/			/		/		6,51	
DDT (somme des isomères, exprimée sous forme de DDT)		x		x		/			5		5,08	/	6,91	2
o,p'-DDT		x		x		/			5			/	6,91	2
p,p'-DDT (chlorophénothane)		x		x		/			5			/	6,91	
DEET (diéthyltoluamide)		x		x		/			/		/		2,18	
Deltaméthrine		x		x	x	0,002		0,02	0,079			/	0,05	4,6
Diazinon				x		0,13	0,22	0,38	0,09	0,2	0,21	/	0,222	3,69
Dibromobenzophénone		x		x		Non listé			Non listé			Non listé	4,93	3
Dichlofenthion			x			/			/		/		5,14	
Dichlofluanide				x		16			/		/		3,7	
Dichlorobenzophénone				x		Non listé			Non listé			Non listé	4,44	3
Diéthofencarbe		x				100			100		/		2,89	
Diméthoate		x				0,12	0,16		/	0,056	0,17	0,1	0,704	

Diméthomorphe			x		102	10		32,4		/	30,8	2,68	
Dimoxystrobine			x		100			79,4		/		3,59	
Endosulfan		x			7,81		6,35	/		/	7,87	4,75	
Ethion			x		/			/		20,6		5,07	
Etridiazole			x		/			/		/		3,37	
Fénitrothion		x			0,16			0,2		/		3,32	
Fenpyroximate			x		15,8			118,5		/		5,01	
Fenthion (sulfoxyde)			x		0,308	0,308	0,22	/		/		1,92	4
Flufénacet		x			170			170		/		3,2	
Fluméthrine		x	x	x	/			/		0,178		6,2	
Flusilazole		x			165			33,8		/		3,87	
tau-Fluvalinate		x	x	x	0,83		0,2	8,66	12,6	/	1,586	7,02	5
Glyphosate			x		100			100		/		-3,2	
Hexachlorobenzène (HCB)		x			/			/		/		3,93	
Hexachlorocyclohexane (HCH, somme des isomères α et δ)		x			/			/		/		3,82	
Hexythiazox			x	x	200			112		/		2,67	
Imazalil			x		39	39		35,1	35,1	/		2,56	
Imidaclopride		x		x	4,17		0,044	0,06	0,004	0,004	0,013	0,57	
5-hydroxy-imidaclopride (5-OH)				x				Non listé	Non listé	0,159		Non listé	
Indoxacarbe		x			0,094	0,07	0,59	0,26	0,194	/	60	4,65	
Iodofenphos		x			/			/		/		5,51	
Iprodione		x		x	200			25		/	102	3,0	
Lindane (γ -HCH)		x		x	0,23			0,011		0,05		3,50	
Linuron		x			120,9			160		/		3,0	
Malathion		x	x		0,16	0,2	0,47	0,4	0,38	9,17		2,75	
Métalaxyl				x	200	100		269		/		1,75	
Métazachlore		x			100			72,2		/		2,49	
Méthoxychlore				x	23,6			/		5,02		5,83	
Mévinphos		x			/			/			0,027	0,127	
Parathion		x		x	/			/			0,175	3,82	

Parathion-méthyl		x			19,5		/	/	3	
Pendiméthaline			x		100	49,8	101,2	/	66,5	5,4
Pentachloroanisole		x	x		Non listé		Non listé	Non listé		5,45
Perméthrine (somme de tous les isomères)		x	x		0,29	0,06	/	/	0,112	6,1
2-phénylphénol		x	x		/		/	/		3,18
Pipéronyl butoxide		x	x		294		/	/		4,75
Pirimicarbe		x	x		53,1	12,56	4	3,01	3,84	1,7
Procymidone		x			100		100	/	/	3,3
Propamocarbe			x		100		84	/	/	0,84
Propargite		x	x		47,9		100	/	/	5,7
Propiconazole			x		100	25	100	/	62,5	3,72
Pyrazophos		x			0,25		/	/	/	3,8
Pyridabène			x		0,024	0,05	0,535	/	/	6,37
Pyriméthanol		x	x		100	100	100	100	/	100
Pyriproxyfène			x		74		100	/	/	5,37
Roténone		x			0,24		/	/	/	4,16
Sulfonamides		x			/		/	/	/	-0,09
Tébuconazole		x	x		200		83,05	/	/	3,7
Tébufénozide		x			234		100	/	234	4,25
Terbuthylazine		x			32		22,6	/	/	3,4
Terbuthylazine-2-hydroxy		x			/		/	/	/	/
Tétradifon		x	x		11		/	/	/	4,61
Tétraméthrine			x		/		/	/	0,16	4,6
Thiaclopride			x	x	38,82	37,83	17,32	17,32	/	25,2
Thiaméthoxame		x	x		0,024	0,024	0,02	0,005	0,005	0,005
Thymol		x		0,044	200		/	/	/	3,96
Trifloxystrobine		x	x		100	200	110	/	175	4,5
Vinclozoline		x	x		/		100	/	100	3,02

Légende :

Code couleur	DL ₅₀
Très toxique	< 2 µg par abeille
Modérément toxique	2-10,99 µg par abeille
Peu toxique	11-100 µg par abeille
Non toxique	> 100µg par abeille

Notes :

¹ Valeurs de DL₅₀ mentionnées par Sanchez-Bayo et Goka (2014) pour la β-cyfluthrine.

² Valeurs pour le chlorophénothane.

³ Valeur de solubilité selon ChemIDplus.

⁴ Valeur de DL₅₀ pour le fenthion.

⁵ Valeurs de DL₅₀ mentionnées par Stoner et Eitzer (2013), par Mullin et al. (2010) et Dai et al. (2017) pour le fluvalinate.

⁶ Valeurs pour la sulfadiazine.